

オーバーナイト長時間透析と通常透析における尿毒症物質と酸化ストレス、骨格筋量の比較

著者	鳥越 暁
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第18291号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00125934

博士論文

オーバーナイト長時間透析と通常透析における尿毒症物質
と酸化ストレス、骨格筋量の比較

東北大学大学院医学系研究科医科学専攻
内科病態学講座 腎・高血圧・内分泌学分野

鳥越 暁

平成 30 年度

博士論文

オーバーナイト長時間透析と通常透析における尿毒症物質
と酸化ストレス、骨格筋量の比較

By Akira Torigoe

**This study was published
in Hemodial. Int., 20, 2016, S17**

目次

1. 要約.....	8
2. 研究背景	10
2.1 慢性腎臓病（chronic kidney disease; CKD）	10
2.2 腎代替療法(renal replacement therapy; RRT)	10
2.3 CKD における合併症	12
2.4 尿毒症物質と酸化ストレス、サルコペニア	13
2.5 オーバーナイト長時間透析とインドキシル硫酸	15
3. 本研究の仮説と目的	16
4. 研究方法	17
5. 研究結果	26
5.1 基礎データ	26
5.2 オーバーナイト長時間透析の骨格筋量における影響	27
5.3 オーバーナイト長時間透析のアミノ酸における影響	27
5.4 オーバーナイト長時間透析のインドキシル硫酸における影響	28
5.4-1 オーバーナイト長時間透析と通常透析の比較	28
5.4-2 オーバーナイト長時間透析の尿毒症物質の経時的変化	28
5.5 オーバーナイト長時間透析の 8-イソプロスタンにおける影響	30
5.6 オーバーナイト長時間透析の遺伝子発現における影響	30
6. 考察	32
7. 研究限界	45
8. 結論	46
9. 参考文献	47
10. 謝辞	79

基礎論文

Akira Torigoe, Emiko Sato, Takefumi Mori, Norio Ieiri, Chika Takahashi, Yoko Ishida, Osamu Hotta, Sadayoshi Ito, Comparisons of amino acids, body constituents and antioxidative response between Long-time HD and Normal HD, Hemodialysis International, 20, S17-S24, 2016, doi: 10.1111/hdi.12462

略語集

本文並びに図表中に以下の略語を使用した。

略語	英語
HD	hemodialysis
QOL	quality of life
PBMCs	peripheral blood mononuclear cells
mRNA	messenger RNA
Nrf2; NFE2L2	nuclear factor E2-related factor 2; Nuclear factor (erythroid-derived 2)
-like2	
NQO1	NAD(P)H quinone dehydrogenase 1
CKD	chronic kidney disease
GFR	glomerular filtration rate
RRT	renal replacement therapy
HDP	hemodialysis product
DXA	dual X-ray absorptiometry
HMOX-1	heme oxygenase -1
TXNRD1	thioredoxin reductase1
IL-6	interleukin-6

GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase
ME1	malic enzyme 1
TALDO1	transaldolase 1
PPAT	phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase
TNF- α	tumor necrosis factor alpha
GCLC; γ GCL	glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene
TKTL2	transketolase-like2
β 2-MG	β 2-microglobulin
ADL	activities of daily living
PS	polysulfone
PMMA	polymethyl methacrylate
EVAL	ethylene vinylalcohol copolymer
PES	polyethersulfone
ECW/TBW	extracellular water / total body water
SRM	selected reaction monitoring
PCR	polymerase chain reaction
GNRI	geriatric nutritional risk index

ANOVA	analysis of variance
DW	dry weight
BMI	body mass index
Kt/V urea	Kt/V for urea
nPCR	normalized protein catabolic rate
Bach1	BTB and CNC homology 1

1. 要約

【背景】 血液透析（hemodialysis; HD）患者は、非 HD 患者と比較し死亡率が高く、quality of life（QOL）も低くなり、死亡率と強く関係する筋量・筋力が低下するサルコペニアの発症が多い。HD 患者の死亡率を改善するための方法の一つとして、通常は 1 回 3-5 時間週 3 回の通常透析を、1 回 8 時間週 3 回のオーバーナイト長時間透析へと変更することが有効である。オーバーナイト長時間透析は生命予後、QOL が改善すると報告されているが、その機序には不明な点が多く残っている。そこで本研究では、オーバーナイト長時間透析における有効性の機序について検討した。

【方法】 HD 患者で 1 回 4-5 時間週 3 回の HD 患者 10 例（通常透析群）、1 回 8 時間週 3 回の HD 患者 8 例（オーバーナイト透析群）を対象とし単一透析施設で横断研究を行った。生体電気インピーダンス法による骨格筋量などの測定を 2 ヶ月間隔で 2 回行い体成分の比較を行った。また、血漿中の尿毒症物質、30 種のアミノ酸の測定を行い血中成分の違いを検討した。さらに血漿を用いて酸化ストレスマーカーである 8-イソプロスタンを測定し、また末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cells: PBMCs）を単離し、酸化ストレス応答関連転写因子 nuclear factor E2-related factor 2（Nrf2）、heme oxygenase-1（HMOX-1）、NAD(P)H quinone dehydrogenase 1、thioredoxin reductase1（TXNTRD1）やその関連

因子の遺伝子発現について評価をした。

【結果】 生体電気インピーダンス法の結果から、骨格筋量、除脂肪量、ミネラル量、タンパク質量における 2 ヶ月間の変化率はオーバーナイト長時間透析群において有意に減少を抑制した。血漿アミノ酸測定の結果から、通常透析群とオーバーナイト長時間透析群でサルコペニアに関与するロイシンなど、多くのアミノ酸で有意差はなかった。オーバーナイト長時間透析群で通常透析群よりも低値を示したアミノ酸においてもアルギニン以外は基準値内であった。血漿中尿毒症物質の比較から、タンパク結合型尿毒症物質であるインドキシル硫酸が通常透析群と比較しオーバーナイト長時間透析群でより除去されていた。血漿 8-イソプロスタン量の比較から、HD 前後の変化率と血漿インドキシル硫酸に正の相関を認めた。さらに、PBMCs の酸化ストレス応答関連因子について調べた結果、Nrf2 関連酵素である HMOX-1 の遺伝子発現の変化率がオーバーナイト長時間透析群で増大していた一方、TXNRD1 はオーバーナイト長時間透析群で低い傾向を示した。

【結論】 1 回の透析時間を 8 時間と長時間にすることで、アミノ酸の低下は確認されず、タンパク結合型尿毒症物質であるインドキシル硫酸が除去され、酸化ストレスが低下し筋組織が保護されることが示唆された。

2. 研究背景

2.1 慢性腎臓病 (chronic kidney disease; CKD)

腎臓は、老廃物、体液を体外に排出し、アミノ酸代謝に関わるなど生命維持に重要な機能を担っている¹⁾。糸球体と尿細管で構成される腎臓の基本単位をネフロンといい、日本では平均 64 歳の健常人での研究があり、一つの腎臓に約 66 万個程度あると報告されている²⁾。このネフロンが障害されると糸球体濾過量 (glomerular filtration rate; GFR) が低下する。GFR 60 mL/min/1.73m² 以下の腎障害が 3 ヶ月以上慢性的に持続すると慢性腎臓病 (chronic kidney disease; CKD) と診断される³⁾。CKD は高血圧や糖尿病のような生活習慣病や慢性糸球体腎炎などを原因とし、徐々に腎機能が低下していき、GFR 15 mL/min/1.73m² 未満で CKD ステージ 5 の末期腎不全となり、腹膜透析や血液透析などの腎代替療法 (renal replacement therapy; RRT) が必要となる (図 1)³⁾。

2.2 腎代替療法 (renal replacement therapy; RRT)

日本では RRT の 97%が施設における慢性透析を行っており、その 73.3%が血液透析 (hemodialysis; HD) である。HD は、透析浄化器 (ダイアライザー) を介して血液と透析液の間に物質を移動させ毒素を除去する方法である (図 2)。2016 年末の時点で 329609 人の患者が慢性透析を受けている⁴⁾。2005 年までは毎

年約 1 万人ずつ患者数が増加、その後増加数は減少傾向にあるものの 2016 年にも 4623 人増加しており（図 3）⁴⁾、慢性透析患者の 5 年生存率は 60.8%とされている（図 4）⁵⁾。

現在 HD は施設において、1 回 3-5 時間週 3 回で行われているが、透析回数を増やす、透析時間を延ばすなど透析方法の工夫で生命予後改善が報告されている⁶⁾。生命予後改善の指標として hemodialysis product (HDP) が提唱され、HDP 値は（1 週間の透析回数）²×（1 回の透析時間）で表され 72 以上が適切とされている⁷⁾。しかし、一般的な 1 回 4 時間週 3 回の透析では HDP 値は 36 となり十分とはいえず、この指標を適切な値にするための透析方法が工夫されている。海外では週 5 回以上の頻回透析が行われ生命予後改善効果が報告されているが⁸⁾、日本で頻回透析をするためには、医療保険上施設による HD では実質不可能であり、在宅血液透析を行なう必要がある。しかしながら、在宅血液透析は電源や排水などの設備が必要であること、自己穿刺する必要があることから日本では 2016 年の時点で 0.2%（635 例）しか行えていないのが現状である⁴⁾。

0.8%の HD 患者が 1 回 6 時間週 3 回以上の長時間透析を行っており⁹⁾、さらにその一部で 1 回 8 時間週 3 回のオーバーナイト長時間透析を施設内で行っている。オーバーナイト長時間透析では通常透析よりも長時間拘束されるため夜間就眠中に透析治療を行う。オーバーナイト長時間透析には、リンなど低分子

物質が過剰に除去されるなどの欠点があるが、生命予後改善や quality of life (QOL) の改善、降圧効果、貧血の改善などの長所が報告されている¹⁰⁻¹³⁾。オーバーナイト長時間透析の有効性に関しては、小分子除去によると考えられる降圧効果や、心不全を合併した HD 患者において心筋のリモデリングが得られると報告されているが^{14,15)}、生命予後や QOL 改善効果の機序としては説明不十分であり、未だ十分に解明されているとは言えない。このように、有用性の機序が明確になっておらず普及が不十分である。

2.3 CKD における合併症

高齢化社会に伴い、CKD は世界的にみても主要なヘルスケアの課題となっている¹⁶⁾。CKD では死亡率が高く、心血管疾患や症候性脳血管障害の発生率も上昇し、サルコペニアなど他の合併も問題となる¹⁷⁻¹⁹⁾。サルコペニアとは、高齢期に見られる骨格筋量の低下と筋力もしくは歩行速度などの身体機能低下により定義され、通常加齢に伴い進行する²⁰⁾。その診断基準には様々なものがあるが、アジアコンセンサスグループによる診断基準においては、握力が男性 26.0 kg 未満、女性 18.0 kg 未満、もしくは歩行速度 0.8 m/秒以下とされ、確定診断は骨格筋量が Dual X-ray absorptiometry (DXA) 法で男性 7.0 kg/m²、女性 5.4 kg/m² 未満、もしくは生体電気インピーダンス法で男性 7.0 kg/m² 未満、女性 5.7 kg/m² 未満となっている²¹⁾。日本における HD 患者のサルコペニアの正確な人数は把

握されていないが、単施設の研究では 22%から 29%と報告されている²²⁻²⁴⁾。サルコペニアは、身体障害のリスクを高め、QOL を著しく低下させる²⁵⁾。年齢以外明らかな原因がない原発性サルコペニア、活動量や疾病、栄養が関連している二次性サルコペニアという概念が提示され²⁶⁾、CKD におけるサルコペニアは尿毒症性サルコペニアと呼ばれ死亡と強い関連が報告されている²⁷⁾。

2.4 尿毒症物質と酸化ストレス、サルコペニア

CKD では腎機能が低下し体内に様々な老廃物が蓄積するが、この中には体内で毒性を示すものがあり、これを尿毒症物質という^{28,29)}。尿毒症物質は特性により、分子量 500 Da 以下の水溶性低分子型尿毒症物質、タンパク質に結合するタンパク結合型尿毒症物質、分子量 500 Da 以上の中分子型尿毒症物質の 3 つに分けられ、体内に蓄積し CKD の合併症に関与する³⁰⁾。尿毒症物質と関係がある疾病としてサルコペニアのほか、CKD の合併症としてよく見られる高血圧、心血管疾患、神経障害および骨障害などが報告されている^{29,31-33)}。

タンパク結合型尿毒症物質であるインドキシル硫酸とインドール-3-酢酸はヒト血清アルブミンのサイト II に結合する^{34,35)}。インドキシル硫酸は CKD で増加し、心血管イベントや CKD 悪化に関与するなど毒性が強いことが報告されている^{28,36-38)}。インドキシル硫酸は食事由来のトリプトファンが腸内においてインドールとなり、インドールが腸内から血中へ吸収され、肝臓で硫酸抱合される

ことで合成される^{39,40)}。

基礎研究において尿毒症性サルコペニアの発症にインドキシル硫酸および酸化ストレスが関わっていること^{41,42)}、臨床研究で酸化ストレスマーカーである 8-イソプロスタンは CKD において上昇すること、HD 患者において、内服薬を用いることで血漿インドキシル硫酸および 8-イソプロスタンが低下することが報告されている^{43,44)}。

酸化ストレスは生体構成成分を酸化する性質があり、遺伝子障害、タンパク質の障害および炎症反応の惹起などを引き起こすことが知られている。Nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2 ; NFE2L2) は酸化ストレスなどから細胞を保護する転写因子であり、酸化ストレス防御遺伝子群であるヘムオキシゲナーゼ 1 (heme oxygenase-1 ; HMOX-1)、チオレドキシシンレダクターゼ 1 (thioredoxin reductase1 ; TXNRD1) および異物代謝酵素である NAD(P)H キノン還元酵素 (NAD(P)H quinone dehydrogenase 1 ; NQO1) などを誘導し、ストレスに対する恒常性を維持する^{45,46)}。また、炎症を増悪させるサイトカインであるインターロイキン-6 (interleukin-6 ; IL-6) や IL-1 β の遺伝子発現を阻害することで炎症を抑えることが報告されている⁴⁷⁻⁴⁹⁾。

インドキシル硫酸が Nrf2 のタンパク質発現を上昇させることが細胞実験によって確認されている⁴¹⁾。ヒトにおいて全身的な分子作用の指標として末梢血

単核球 (peripheral blood mononuclear cells: PBMCs) での messenger RNA (mRNA) 発現が用いられている⁵⁰⁾。HD 患者の PBMCs で、健常者と比較し Nrf2 の mRNA 発現が低下していると報告されているが、長時間透析に関する報告はない⁵⁰⁾。

基礎研究において、インドキシル硫酸は体内で有機アニオントランスポーターを介して細胞内に取り込まれ、活性酸素産生を誘導し細胞障害を引き起こし、CKD 進行や骨代謝異常、心疾患発症に関与することが示されている⁵¹⁻⁵³⁾。また、インドキシル硫酸が Nrf2 を活性化し過剰なペントースリン酸経路の活性化などの代謝変化を引き起こし尿毒症性サルコペニアなどに関与することを示す結果が報告されている⁴¹⁾ (図 5)。

2.5 オーバーナイト長時間透析とインドキシル硫酸

1 週間程度の短期的な通常透析とオーバーナイト長時間透析の比較では、血漿インドキシル硫酸濃度には変化がみられないとの報告がある⁵⁴⁾。また、5 例の長時間透析で、血中インドキシル硫酸濃度に有意差はないが除去率が改善されているという報告がなされている⁵⁵⁾。

3. 本研究の仮説と目的

以上の背景により、オーバーナイト長時間透析によりインドキシル硫酸濃度の低下により酸化ストレスが低下し、サルコペニアを改善させると仮説を立てた。

本研究の目的は、通常診療で得られた溶質除去結果とともに血漿尿毒症物質と酸化ストレスマーカー濃度、PBMCs の Nrf2 を含む酸化ストレスマーカーおよび生体電気インピーダンス法による骨格筋量とその関連を、通常透析群とオーバーナイト長時間透析群の間で評価および比較を行い、上記仮説を検証することである。

4. 研究方法

4.1 臨床研究

本研究は国立大学法人東北大学大学院医学系研究科の倫理委員会にて承認（受付番号:2016-1-107）されており、ヘルシンキ宣言を遵守している。

本研究は、2015 年 5 月から 2016 年 11 月の間に堀田修クリニック（仙台市若林区）で慢性透析を行った男性患者 52 名のうち、ADL が自立し同意を得られた通常透析患者 10 例とオーバーナイト長時間透析患者 8 例を対象とした。私と独立した主治医により血液透析濾過、感染症、自己免疫疾患、悪性腫瘍治療中および外傷と判断された患者は除外した。国立大学法人東北大学において認められたプロトコルに従い私が十分な説明を行い書面で同意を得た。

対象患者の基礎特性について表 1 にまとめた。通常透析は 1 回 4-5 時間週 3 回の維持透析、オーバーナイト長時間透析は 1 回 8 時間週 3 回の維持血液透析をいずれも施設内で施行した。通常透析患者は 10 例（ 68.1 ± 2.7 歳）、オーバーナイト長時間透析患者は 8 例（ 44.5 ± 3.0 歳）であった。通常透析患者の原疾患は糖尿病性腎症、巣状分節性糸球体硬化症、逆流性腎症、腎硬化症、高血圧、IgA 腎症、原疾患不明、オーバーナイト長時間透析患者の原疾患はアルポート症候群、IgA 腎症、巣状分節性糸球体硬化症、多発性嚢胞腎、慢性糸球体腎炎であった。通常透析患者の血液透析濾過患者 19 例、感染症 8 例、自己免疫疾患 2 例、悪性腫瘍治療中 2 例およびオーバーナイト長時間透析患者の外傷 1 例を除外し

た。

オーバーナイト長時間透析は21時から22時半までの間にHDを開始し8時間施行した。オーバーナイト長時間透析は身体的に安定して透析可能、ADLが自立している患者が対象となっているため本研究ではADLが自立している患者を対象として研究を行った。

また、オーバーナイト長時間透析患者では3例が1000 mL/日程度の自尿があり、ダイアライザーはエチレンビニルアルコール共重合体 (ethylene vinylalcohol copolymer ; EVAL) 膜 (Kf-m20 ; 川澄化学工業株式会社、東京、日本) を使用し、オーバーナイト長時間透析患者で無尿の5例はポリスルホン (polysulfone ; PS) 膜 (FXCorDiaX220 ; フレゼニウスメディカルケアジャパン、東京、日本) を使用した。通常透析患者では1例が1000 mL/日程度、2例が500 mL/日程度の自尿がみられた。通常透析患者では1000 mL/日程度の自尿がある1例はEVAL膜 (Kf-m15 ; 川澄化学工業株式会社、東京、日本)、500mL/日程度の自尿がある2例および無尿である4例はPS膜 (FXCorDiaX140、FXCorDiaX180、FXCorDiaX220 ; フレゼニウスメディカルケアジャパン、東京、日本)、1例はポリエーテルスルホン (polyethersulfone ; PES) 膜 (PES-17Saeco ; ニプロ株式会社、大阪、日本)、2例ポリメチルメタクリレート (polymethyl methacrylate ; PMMA) 膜 (NF-1.6H、NF-2.1H ; 東レメディカル株式会社、東京、日本) を使用してい

た。各ダイアライザーの情報を表 2 に示す。

生体電気インピーダンス法は、InBody 720 (InBody, Seoul, 韓国) を用いて、2 ヶ月間隔をあけて透析後に 2 回計測した。

血液サンプルは、維持透析開始時および終了時に透析回路より採取した。加えて、オーバーナイト長時間透析では、透析開始時、透析 2 時間目、透析 4 時間目、透析終了時、2 日後の透析開始時に採取した。血液サンプルは、採取した後血漿と PBMCs に分離し、輸送後に-80℃で保存、検査を行った。

4.2 生体電気インピーダンス法による骨格筋量の評価

透析終了後に 8 つの電極を用いて生体電気インピーダンス法を用い測定を行った。方法は、電極に接触するように測定器の上に裸足で立位をとる。測定中は上肢を 15 度程外転させた状態で電極を両手に持ち立位を保ち、静止して測定を行った。

生体電気インピーダンス法は、人体に害を与えないとされる極微弱な電流を流しその抵抗を測定する方法である。体成分は、体水分・ミネラル・タンパク質・体脂肪で構成されるが、この 4 つの構成成分の組み合わせから除脂肪量・筋肉量の情報を得ることができる (図 6)。高周波数の電流は水分全体を流れ、低周波数に行くほど電流は細胞外水分に沿って流れる性質から、最初に体水分

量と細胞内・外水分量の均衡度を測定し、体水分量から除脂肪量、細胞内水分量からタンパク質、除脂肪量からミネラル量および骨ミネラル量を算出する。さらに求めた除脂肪量と骨ミネラル量から筋肉量と骨格筋量体重、体重と除脂肪量から体脂肪量を算出する⁵⁶⁾。また、体水分 (total body water; TBW) に対する細胞外水分 (extracellular water; ECW) の比を算出した (細胞外水分比; ECW/TBW)。標準範囲は 0.36-0.40 であり、0.40 以下であれば細胞外液が少ないとされている。

4.3 ヒト血漿インドキシル硫酸の測定

インドキシル硫酸は Sigma Chemical Co. (13875, lot: BCBJ1497V St Louis, MO, 米国)、3-インドキシル硫酸-d₄ は Toronto Research Chemicals (Toronto, 加国) から購入した。

LC-MS/MS は、それぞれ Prominence LC system (Shimadzu, 京都, 日本) と TSQ-Quantum-Ultra (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, 米国) であり、測定はネガティブモードで行った。

血漿インドキシル硫酸の測定条件は以下の通りである。血漿 50 μ L に、0.1% ギ酸メタノール (0.25 μ g/mL インドキシル硫酸-d₄ を含む) 150 μ L を添加し、ボルテックスした後、超音波を 5 分間照射し、16400 \times g、20 分間、4°C で遠心し、その上清を 0.22 μ m のフィルターで濾過したものを測定サンプルとした。前処理

を行ったサンプルのうち、4 μ L を使用した。測定に用いたカラムは 100 \times 2.0 mm SeQuant ZIC-HILIC (Merck Schuchardt, Hohenbrunn, 独国) であり、移動相は溶媒 A) 98/2/0.1 = H₂O/アセトニトリル/ギ酸と溶媒 B) 2/98/0.1 = H₂O/アセトニトリル/ギ酸である。流速を 0.4 mL/min とし、以下の勾配で測定を行った。0 min–1 min: 10%溶媒 B; 1.1 min–2 min: 10%–55%溶媒 B; 2.1 min–4 min: 55%–90%溶媒 B; 4.1 min–6 min: 90%–100%溶媒 B; 6.1 min–11 min: 100%溶媒 B; 11.1 min–15 min: 10%溶媒 B。インドキシル硫酸および 3-インドキシル硫酸-d₄ は、選択反応モニタリング (selected reaction monitoring ; SRM) で行い、それぞれ m/z 212 と 80、 m/z 216 と 80 で検出した。Spray 電圧, vaporizer 温度、イオントランスファーチューブはそれぞれ、3500 V、275°C、350°Cである。今回用いた測定系は、日内および日間の真度は 0.2 μ g/mL で 0.049%、4.03%、であり、日内および日間の精度は 0.2 μ g/mL で 3.1%、8.62%である。

透析中尿毒症物質の経時変化を評価する際の測定条件は以下のとおりである。サンプルの前処理は、前述と同様である。測定に用いたカラムは 100 \times 2.0 mm Capcell Pak C18 (Shiseido, 東京, 日本) であり、移動相は溶媒 A) 10 mM 酢酸アンモニウム、B)アセトニトリルである。流速を 0.4 mL/min とし、以下の勾配で測定を行った。0 min–1 min: 1–10%溶媒 B; 1 min–2min: 10%–40%溶媒 B; 2 min–3 min: 40%–80%溶媒 B; 3 min–5 min: 80%–100%溶媒 B; 5 min–7 min: 100%溶媒 B; 7

min–10 min: 0%溶媒 B。インドキシル硫酸、3-インドキシル硫酸-d₄、インドール-3-酢酸、馬尿酸、フェニルアセチルグルタミン、N², N²-ジメチルグアノシンの SRM で行い、それぞれの SRM とコリジョンエネルギーは m/z 212→80 (21 eV)、m/z 216→80 (30 eV)、m/z 176→130 (14 eV)、m/z 180→105 (13 eV)、m/z 265→130 (14 eV)、m/z 312→180 (15 eV)で検出した。Spray 電圧, vaporizer 温度、イオントランスファーチューブはそれぞれ、2500 V、320℃、350℃である。

4.4 血漿アミノ酸、β2-ミクログロブリン(β2-MG)の測定

血漿アミノ酸および β2-ミクログロブリン (β2-MG) は LSI メディエンス (東京、日本) により高速液体クロマトグラフィーで測定した。

測定機器は ACQUITY UPLC (日本ウォーターズ株式会社、東京、日本) を使用し、標準物質はアミノ酸標準試薬 (シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社、東京、日本)、 L-allo-イソロイシン (シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社)、 L-グルタミン (シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社)、L-ノルバリン (シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社) を使用し、内部標準物質は L-ノルバリンとした。分析カラムは Mass Trak TM Amino Acid Analysis Column 2.1 mm x 150 mm, 1.7μm (日本ウォーターズ株式会社) を使用し、溶離液は溶離液 A (Mass Trak TM Eluent A Concentrate) (日本ウォーターズ株式会社) 溶離液 B (Mass Trak TM Eluent B) (日本ウォーターズ株式会社) を用いた。誘導体化試薬は Mass Trak

TM Amino Acid Analysis Derivatization Kit（日本ウォーターズ株式会社）を用い、6-アミノキノリル-N-ヒドロキシ-スクシイミジルカルバメートが生体アミノ酸と反応し、安定した発色団に変換するため、これを UV260nm で検出した。

ラテックス凝集免疫比濁法（LIA 法）により β 2-MG を測定した。試薬はベータ 2-マイクログロブリンキット LX 試薬' 栄研' β 2-M-II（栄研化学株式会社、栃木、日本）を用い、セル中で抗 β 2-MG 抗体が感作したラテックスと、検体中の β 2-MG を抗原抗体反応により凝集させ、反応後のセルを透過する透過光の減少度を測ることで測定した。

4.5 Polymerase chain reaction (PCR)による遺伝子発現定量解析

細胞の RNA は RNeasy Mini kit（Qiagen, Hilden, 独国）を使用し、添付文書に従って抽出を行った。抽出した RNA は SuperScript III First-standard Synthesis SuperMix (Invitrogen, Carlsbad, CA, 米国) を使用して、cDNA に逆転写を行った。定量 PCR は適量の cDNA、0.4 μ M の各プライマー、SYBR Premix EX Taq II (Takara Bio, 草津, 日本) を含む Total 25 μ L の溶液を作成した。定量 PCR は BioRad-CFX（Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, 米国）を用いた。熱変性、アニーリング、伸長反応はそれぞれ、5°C で 30 秒, 95°C で 5 秒, 60°C で 20 秒間、39 回繰り返して行った。グリセルアルデヒド -3- リン酸脱水素酵素 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ; *GAPDH*) mRNA を内部標準物質と

した。本研究では、*Nrf2*、*NQO1*、glucose-6-phosphate dehydrogenase (*G6PD*)、malic enzyme 1 (*ME1*)、*NQO1*、transaldolase 1 (*TALDO1*)、*HMOX-1*、phosphoribosyl pyrophosphate amidotransferase (*PPAT*)、tumor necrosis factor alpha (*TNF- α*)、*IL-6*、glutamate-cysteine ligase catalytic subunit gene (*GCLC*; γ *GCL*)、transketolase-like2 (*TKTL2*) に特異的なプライマーを Takara Bio から購入し、*TXNRD1* は株式会社ファスマック（厚木、日本）でプライマーを合成した。プライマー情報を表 3 にまとめた。

4.6 ヒト血漿 8-イソプロスタンの測定

イソプロスタンは活性酸素によって組織リン脂質の非酵素的酸化により生成されるエイコサノイドファミリーであり、酸化ストレスマーカーである⁵⁷⁾。8-イソプロスタンは 8-Isoprostane ELISA kit (和光純薬工業株式会社、大阪、日本) を使用し、添付文書に従い抽出し測定を行った。0.9 mL の血漿を 12 μ L の酢酸で pH 4 に調整し、0.9 mL の酢酸エチルを添加し遠心分離を行い、有機層-酢酸エチル層（リポプロテイン）を蒸発させ鹼化した。2.0 mL 20%KOH 溶液に溶解し 1 時間 50°C でインキュベートした。3 mL の H₂O で希釈し、20%ギ酸 (132 μ L) で pH 5.5 に調整し、2.0 mL 酢酸エチルを添加し遠心分離を行う。上層を集め蒸発させ、20 μ L のエタノールと 380 μ L の 1 \times Sample Dilution Buffer でサンプルを溶解し、pH 7.4 のサンプルにする。100 μ L の希釈したサンプルを ELISA にて

測定した。

4.7 Geriatric nutritional risk index (GNRI) の算出方法

Geriatric nutritional risk index (GNRI) は日本透析医学会の維持血液透析ガイドラインにおいて栄養評価指標としてあげられている項目である¹⁴⁾。高齢者の栄養障害のリスクをより簡便に行うために開発された方法であり⁵⁸⁾、計算式は、 $GNRI = [1.489 \times \text{アルブミン (g/L)}] + [41.7 \times (\text{体重 kg} / \text{標準体重 kg})]$ であり、HD患者においてはGNRI 91.2未満が栄養障害のリスクが高いと報告されている⁵⁹⁾。

4.8 統計解析

統計解析は、JMP Pro 12 (SAS Institute Japan 株式会社、東京、日本)で行った。サンプルはQ-Q plot、Shapiro-Wilk testを用いて正規分布の確認を行ない、正規分布の場合はF testで等分散の確認を行なった。K、BUN、Crは対数変換を行なった。通常透析とオーバーナイト長時間透析の比較では正規分布を示し、かつ等分散であるデータにはStudent's *t*-testを行なった。Dry weight (DW)、body mass index (BMI)、GNRI、nPCRはF testで等分散の帰無仮説を棄却し、Welch's *t* testで検定を行なった。正規分布が確認できなかったCRP、血流量はMann-Whitney's *U* testを行なった。

オーバーナイト長時間透析における透析中の尿毒症物質の時間経過につい

ては分散分析 (analysis of variance; ANOVA) で検討を行い、ANOVA で有意差が認められた場合、Dunnett 法により解析を行った。相関回帰分析は、Spearman の順位相関で行った。有意確率として $p < 0.05$ とした。

5. 研究結果

5.1 基礎データ

通常透析群とオーバーナイト長時間透析群との基礎データおよび採血、栄養指標、透析効率について比較した。年齢、DW に有意差があり、オーバーナイト長時間透析群のほうが若く、体重が重かった (56.8 ± 1.8 kg vs 71.6 ± 5.5 kg)。BMI には有意差はなかったが通常透析群が BMI 21 kg/m² であるのに対しオーバーナイト長時間透析群は BMI 24 kg/m² であった ($p = 0.12$)。

2 ヶ月間隔をあけて生体電気インピーダンス法で測定したため、生体電気インピーダンス法 1 回目測定時および 2 ヶ月後に測定した 2 回目測定時での患者基礎特性を比較した。1 回目測定、2 回目測定の 2 ヶ月間隔では有意な変化は見られなかった。主に BUN など小分子除去を対象とした透析効率の指標である標準化透析量 (Kt/V urea) は、両群ともにガイドラインの目標透析値である 1.4 以上であった。オーバーナイト長時間透析群で有意に高値であり、小分子の除去効率が良好であった⁹⁾。透析時の血流量はオーバーナイト長時間透析で低く設定していた。

本研究でエリスロポエチン使用量、標準化蛋白異化率（protein catabolic rate ; nPCR）、GNRI に有意差は認められなかった（表 1）。

5.2 オーバーナイト長時間透析の骨格筋量における影響

透析後における、骨格筋量およびそれに類似した指標である除脂肪量、体水分量および浮腫の指標である ECW/TBW、栄養状態の検討を目的としてタンパク質、ミネラルの 2 ヶ月間の変化率を比較した。両群において ECW/TBW は基準値である 0.36-0.40 内であり、オーバーナイト長時間透析群が 0.376 ± 0.003 、通常透析が 0.386 ± 0.002 とオーバーナイト長時間透析群のほうが有意に低値であった（図 7）。オーバーナイト長時間透析群で体水分量が多く（ $p = 0.02$ ）、骨格筋量、除脂肪量、ミネラル量、タンパク質量が高値であった（ $p = 0.01, p = 0.02, p = 0.01, p = 0.01$ ）（図 8）。

5.3 オーバーナイト長時間透析のアミノ酸における影響

サルコペニアにアミノ酸が関わっている可能性も報告されており⁶⁰⁾、通常透析群とオーバーナイト長時間透析群の血漿アミノ酸濃度を比較した。グルタミン、総アミノ酸、非必須アミノ酸では透析開始時にオーバーナイト長時間透析群が低値（ $p = 0.02, p = 0.02, p = 0.002$ ）であり、アラニン、オルニチン、アルギ

ニンでは透析開始時、透析終了時共にオーバーナイト長時間透析群が低値（透析開始時 $p = 0.01$, $p = 0.01$, $p = 0.04$ 、透析終了時 $p = 0.02$, $p = 0.04$, $p = 0.01$ ）であった。また、オーバーナイト長時間透析群が通常透析群よりオルニチン、総アミノ酸、非必須アミノ酸、アラニン、アルギニンはそれぞれ有意に低値であったが、透析終了時の値はアルギニン以外は基準値内であった（図 9、図 10）。また、透析前後の減少率はグリシン、シトルリン、グルタミンがオーバーナイト長時間透析群で有意に低値であった（図 11）。

5.4 オーバーナイト長時間透析のインドキシル硫酸における影響

5.4-1 オーバーナイト長時間透析と通常透析の比較

タンパク結合型尿毒症物質でサルコペニアとの関連が報告されているインドキシル硫酸について、通常透析群とオーバーナイト長時間透析群の血漿濃度を比較した（図 12）。両群共に透析前後で有意差を認めた（ $p = 0.01$, $p = 0.02$ ）。通常透析群とオーバーナイト長時間透析群との比較では、透析開始時での有意差はなかったもののオーバーナイト長時間透析群のほうが低い傾向が見られ（ $p = 0.06$ ）、透析終了時には両群に有意差があった（ $p = 0.01$ ）。

5.4-2 オーバーナイト長時間透析の尿毒症物質の経時的変化

オーバーナイト長時間透析群で血漿インドキシル硫酸濃度がより低下して

おり、経時的に透析中の尿毒症物質における変動を検討した。透析開始時、透析 2 時間目、透析 4 時間目、透析終了時、2 日後の透析開始時について血漿中の水溶性低分子型尿毒症物質、タンパク結合型尿毒症物質、中分子型尿毒症物質を測定した。タンパク結合型尿毒症物質において、馬尿酸は透析 2 時間目から透析終了時まで有意に低下していたが、インドール-3-酢酸、インドキシル硫酸は透析 8 時間目で有意に低下した ($p = 0.015$, $p = 0.004$) (図 13)。水溶性低分子型尿毒症物質はクレアチニン、フェニルアセチルグルタミン、ジメチルグアノシンを測定し、いずれも透析 2 時間目より透析終了時まで有意に減少していた (図 14)。

中分子型尿毒症物質である $\beta 2$ -MG の経時的变化では、ダイアライザーで除去率が異なるためダイアライザー毎に解析した (表 2)。EVAL 膜では有意差は見られなかったが PS 膜では 2 時間目から次回透析開始時まで有意に低下していた (図 15)。

同様にオーバーナイト長時間透析群におけるインドキシル硫酸およびインドール-3-酢酸の除去効果をダイアライザー毎に解析した。インドール-3-酢酸濃度は 8 時間目で EVAL 膜と比較して PS 膜が低値であり、インドキシル硫酸濃度は透析開始時、透析 2 時間目で PS 膜と比較して EVAL 膜が低値であった (図 16)。

5.5 オーバーナイト長時間透析の8-イソプロスタンにおける影響

基礎研究において、インドキシル硫酸が酸化ストレスを誘導しサルコペニアを引き起こすとされているため⁴¹⁾、酸化ストレスマーカーである8-イソプロスタンを透析前後で測定しインドキシル硫酸との相関について検討した。8-イソプロスタンの変化率とインドキシル硫酸との間に正の相関が見られた（透析前; $p = 0.014$, 透析後; $p = 0.0013$ ）（図 17）。

5.6 オーバーナイト長時間透析の遺伝子発現における影響

通常透析群とオーバーナイト長時間透析群を比較し、PBMCs における *Nrf2* の mRNA 発現および *Nrf2* に制御される酸化ストレス反応や解毒化に関わる *HMOX-1*、*TXNRD1*、炎症にかかわる *TNF- α* 、*IL-6* の mRNA 発現について比較した。また、インドキシル硫酸が代謝に影響を与えることも指摘されており⁴¹⁾、ペントースリン酸経路やTCA回路に関わる *G6PD* や *TALDO1* 等の酵素について、通常透析、オーバーナイト長時間透析両群の透析前後の変化量を比較した。

Nrf2 はオーバーナイト長時間透析群で低値 ($p < 0.0001$) であり、酸化ストレス応答に関わる *TXNRD1* はオーバーナイト長時間透析群で高い傾向 ($p = 0.052$) にあった。ストレス応答に関わる *HMOX-1* はオーバーナイト長時間透析群で高値 ($p < 0.05$) であった。また、*IL-6*、*TNF- α* など炎症反応に係わる遺伝子発現

の変化量は両群で有意差はなく、異物代謝酵素群である *NQO-1*、代謝に関わる *G6PD*、*PGD*、*TALDO1* などでも mRNA 発現は透析前後の変化では有意差はみられなかった（図 18）。

6. 考察

長時間透析の定義は世界で一般化されたものではなく、International Quotidian Dialysis Registry では1回5時間以上、Frequent Hemodialysis Network(FHN) Trial では1回6-8時間とされている^{61,62)}。日本透析医学会のガイドラインでは診療報酬上の透析時間枠が5時間以上と規定されていることや上記の報告などを踏まえて6時間以上を長時間透析としている¹⁴⁾。オーバーナイト長時間透析では1回8時間透析の報告が多く、本研究においては8時間週3回をオーバーナイト長時間透析とした^{11,13,63)}。

オーバーナイト長時間透析は生命予後改善やQOLの改善などの長所が報告されている治療法であるが、その有用性の機序が明確ではない。本研究では、通常透析群とオーバーナイト長時間透析群を対象に、透析による溶質除去結果および血漿中の尿毒症物質の変化、アミノ酸の変化、酸化ストレスの応答、生体電気インピーダンス法による体成分の評価からオーバーナイト長時間透析の有用性について検討した。その結果、オーバーナイト長時間透析群では血漿インドキシル硫酸濃度が低値を示し、骨格筋量の減少が抑制されていた。つまり、オーバーナイト長時間透析では、毒性が高く筋細胞へ悪影響を及ぼすインドキシル硫酸を除去することで、筋組織を保護する可能性を示した（図19）。

栄養の指標であるGNRIは91.2以下でHD患者における栄養障害リスクが高

いと報告されている⁹⁾。本研究では、通常透析群 100.1 ± 4.3 、オーバーナイト長時間透析群 113.9 ± 5.7 と 91.2 以上であり、両群間で有意差は認められなかった。

nPCR は BUN 以外で体外に失われる尿素量および BUN 産生速度をタンパク質重量に換算したものである⁹⁾。極端な異化や同化がみられない安定した状態であればタンパク質摂取量の近似値を取るとされており、 0.9 g/kg/日 以下で死亡のリスク増大が報告されている⁶⁴⁾。本研究で通常透析群 $0.9 \pm 0.1 \text{ g/kg/日}$ 、オーバーナイト長時間透析群 $1.0 \pm 0.1 \text{ g/kg/日}$ と両群ともに 0.9 g/kg/日 以上であり、両群間で有意差は認められなかった。この結果から、通常透析患者およびオーバーナイト長時間透析群に栄養障害はないと判断した。

アミノ酸は、組織タンパク質の構成要素であり、生理学的重要性を持つ多数の小分子物質（一酸化窒素、ポリアミン、グルタチオン、クレアチン、カルニチン、甲状腺ホルモン、セロトニン、ヘムなど）の調整、合成に必要な要素である⁶⁵⁻⁷⁰⁾。HD 患者ではアミノ酸の代謝異常が起こり、グリシンやシスチン、アスパラギン酸などのアミノ酸が上昇することが知られている⁷¹⁾。また、アミノ酸は小分子であり、HD により減少することが知られており⁷²⁾、筋肉や肝などの組織タンパクの分解によってアミノ酸の補充を行なっていると考えられている⁷³⁾。アミノ酸は一部が増加、減少しても悪影響があり、アミノ酸のバランスが重要といわれている⁷⁴⁾。本研究におけるアミノ酸のバランスを確認するため、測

定した 30 種類のアミノ酸のうちタンパク質を構成する 20 種類のアミノ酸およびシトルリンのアミノ酸車軸図（アミノグラム）を作成した⁷⁴⁾。本研究では、両群において体内のアミノ酸量が健常人よりも高値を示しており既報と一致している⁷⁵⁾。しかし、アミノグラムの結果から、HD 前の血漿アミノ酸を比較するとオーバーナイト長時間透析群の方がより健常人のアミノグラムに近づいていることがわかった。オーバーナイト長時間透析後での平均値はアラニン 197.6 ± 27.2 mmol/mL（基準値 239.9 mmol/mL- 510.2 mmol/mL）、オルニチン 65.0 ± 9.8 mmol/mL（基準値 43.2 mmol/mL-95.7 mmol/mL）、アルギニン 26.3 ± 3.6 mmol/mL（基準値 46.0 mmol/mL-121.7 mmol/mL）であり、通常透析群よりも低値を示していた。これらの中でアルギニンは基準値より低値を示したが、通常透析群でもオーバーナイト長時間透析群と同様に基準値以下を示した。また、透析前後の変化率ではオーバーナイト長時間透析群でグリシンおよびシトルリン、グルタミンの減少率が低かった。透析後の値はそれぞれ、グリシンが通常透析群 211.8 ± 34.6 mmol/mL、オーバーナイト長時間透析群 243.3 ± 31.4 mmol/mL（基準値 153.2 mmol/mL - 362.1 mmol/mL）、グルタミンが通常透析群 434.5 ± 16.6 mmol/mL、オーバーナイト長時間透析群 466.4 ± 16.7 mmol/mL（488.2 mmol/mL - 733.1 mmol/mL）、シトルリンは通常透析群 48.9 ± 6.8 mmol/mL、オーバーナイト長時間透析群 55.4 ± 11.5 mmol/mL（20.4 mmol/mL - 44.8 mmol/mL）であった。グリ

シンは両群共に基準値内、グルタミンは両群共に基準値より低値、シトルリンは両群共に基準値より高値であった。

グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸は、哺乳類の腸細胞の主要な代謝燃料となる⁷⁶⁻⁸⁰⁾。グリシンは記憶や学習、脳虚血後の細胞死などに関わるとされている NMDA 型受容体が機能するため必要である^{81,82)}。シトルリンは抗酸化作用があること、筋保護に作用することが報告されている⁸³⁾。ロイシンは哺乳類においてラパマイシンを活性化し、タンパク質合成を促進し、細胞内タンパク質分解を抑制し、サルコペニアに関与する⁸⁴⁻⁸⁶⁾。またメチオニンには細胞において、DNA のメチル化やタンパク質のメチル化に関与するアミノ酸である⁸⁷⁾。さらにトリプトファンやチロシンは、腸において腸内細菌叢によりインドールや p-クレジル硫酸になる⁸⁸⁾。

シトルリンは筋保護作用があり、正常範囲より高値であり、オーバーナイト長時間透析群で減少率が低く、筋肉量の減少抑制に関与した可能性がある。グリシンおよびグルタミンの減少率が低く、中枢神経機能および腸細胞への作用で有利に働く可能性がある。

また、グルタミン酸は透析開始時が通常透析群 77.8 ± 7.8 mmol/mL、オーバーナイト長時間透析群 62.1 ± 6.0 mmol/mL、透析終了時が通常透析群 105.5 ± 12.6 mmol/mL、オーバーナイト長時間透析群 80.5 ± 8.3 mmol/mL と透析終

了時が高値となっていた。アルギニン、グルタミン、ヒスチジン、プロリンはグルタミン酸に分解されること⁸⁹⁾、グルタミン酸が HD 終了時に上昇すると報告されており異化亢進によるものではないかと考察されていることから⁹⁰⁾、本研究でも同様に異化亢進によるグルタミン酸上昇ではないかと考えた。

栄養関連データのまとめであるが、オーバーナイト長時間透析群では一部アミノ酸では減少していたが、アルギニン以外は基準範囲内にあること、GNRI、nPCR 等の栄養指標に有意差がなかったことから、オーバーナイト長時間透析群では栄養状態に悪影響はなく、一部アミノ酸で減少率が低かったことから筋肉保護などに有益であった可能性がある。

オーバーナイト長時間透析でエリスロポエチン使用量が低下すると報告されている¹⁰⁾。本研究では有意差は認められなかったが、症例数が不十分であり検出力が弱かったためと考えた。

本研究では、タンパク結合型尿毒症物質であるインドキシル硫酸濃度について、通常透析群とオーバーナイト長時間透析群で比較した。通常透析群でも透析前後で血漿中の濃度は低下しているが、オーバーナイト長時間透析群で有意に低値であった。また、水溶性低分子型尿毒症物質、タンパク結合型尿毒症物質、中分子型尿毒症物質の 3 タイプを分けて透析による経時変化を評価した。本研究では、水溶性低分子型尿毒症物質であるクレアチニン、フェニルアセチ

ルグルタミン、 N^2,N^2 -ジメチルグアノシンの除去効率を評価したが、いずれの物質においても 2、4、8 時間で有意に除去されていた。次にタンパク結合型尿毒症物質であるインドキシル硫酸、インドール-3-酢酸、馬尿酸の除去効率を評価した。その結果、インドキシル硫酸とインドール-3-酢酸は 8 時間のみで有意差が認められた。今回評価した 3 つの物質のうち、それぞれのタンパク結合率は馬尿酸が 48.3%、インドキシル硫酸が 97.7%、インドール-3-酢酸が 94.1%である⁹¹⁾。

通常透析群とオーバーナイト長時間透析群を比較すると、小分子物質の除去効率の指標である Kt/V は、オーバーナイト長時間透析群で高値（検査開始時 $p = 0.053$ 、2 ヶ月検査時 $p = 0.04$ ）であり、経時的変化の結果から、水溶性低分子型尿毒症物質は 8 時間目まで経時的に除去されることが示された。小分子物質には尿毒症物質以外にも生体に必要な成分も含まれており、リンなどが必要以上に除去される危険性も示している^{11,92)}。小分子物質の除去効率を高めるために血流量を増加させることも有効と考えられているが、オーバーナイト長時間透析では除去が過剰となる可能性があるため、本研究では血流量を低く設定していた^{93,94)}。タンパク結合型尿毒症物質においては、タンパク結合率の違いで血漿濃度が異なっており、タンパク結合率が高いほど除去が困難であることが示された。インドキシル硫酸の除去については、それぞれ PS 膜を使用した報告で、

1 週間のオーバーナイト長時間透析では血漿中の濃度に差がなかったと報告されている一方⁵⁴⁾、インドキシル硫酸の血中濃度に有意差はみられなかったが除去率は改善していたと報告されている⁵⁵⁾。結果が異なっていたが、本研究はオーバーナイト長時間透析の施行期間が 15.4 ± 3.1 ヶ月と比較的長い。そのため、短期間の長時間透析では除去率が改善していても血漿インドキシル硫酸濃度を低下させるには不十分であり、数ヶ月から数年単位と比較的長期間、オーバーナイト長時間透析を行うことによりタンパク結合率が高い尿毒症物質を除去できる可能性を示している。

ダイアライザーは透析膜の性質、膜面積、小分子の除去性能に違いで分類されており、本研究では 6 種類のダイアライザーを用いている。ダイアライザーの限外濾過率、透水性能を示す **ultrafiltration rate (UFR)** は除水性能を示している。また、小分子の尿素やクレアチニン、リンなどの小分子除去性能、中分子である $\beta 2$ -MG の除去性能についても記載した (表 2)。日本透析医学会はダイアライザーの機能分類を提唱しており、機能分類 2013 で $\beta 2$ -MG とアルブミンふるい係数により分類されている⁹⁵⁾。本症例のダイアライザーは、 $\beta 2$ -MG のクリアランスが 70 mL/min 以上、アルブミンふるい係数が 0.03 未満である II-a 型に分類されている PS 膜および PES 膜、特別な機能を持つとされる S 型に分類される EVAL 膜および PMMA 膜が使用されている。EVAL 膜は血漿タンパク質の吸

着が少ない性質を持ち、血小板の活性化や好中球の活性化による活性酸素種の産生が少ないと報告されている⁹⁶⁻⁹⁹⁾。PMMA 膜はアルブミンに近い大分子溶質の除去に優れた分画特性およびタンパク質吸着特性を持ち、大分子吸着除去が可能であるとされている^{100,101)}。透析膜により特性の違いがあるが、タンパク結合型尿毒症物質の除去性能についてはほとんど報告がない。また、ダイアライザーは膜表面に付着層の形成、膜内での膜細孔の目詰まりなどにより劣化することが知られているが¹⁰²⁾、8 時間透析での除去性能やその劣化に関してはほとんど確認されていない。自施設での検討では、PES 膜 (PES-21Da ; ニプロ、大阪、日本)、PS 膜 (NV-21X ; 東レメディカル、東京、日本)、EVAL 膜 (Kf-m20) は、水溶性低分子型尿毒症物質の除去は変わらないが、EVAL 膜の特性として中分子型尿毒症物質である β 2-MG は除去効率が悪く、アルブミンがより除去されたと報告した¹⁰³⁾。本研究では PS 膜は 2 時間から 8 時間まで経時的に β 2-MG が除去されていたが、EVAL 膜では 2 時間から 8 時間でほとんど除去されていなかった (図 15)。インドキシル硫酸の透析中の変動にもダイアライザーによる違いがあり、PS 膜では経時的な減少が見られるのに対し、EVAL 膜では経時的な変化が明確でなく透析開始時より比較的低値であった。自尿がある症例に比較的性能の低い EVAL 膜を使用しており、自尿があるため血漿インドキシル硫酸が尿へ排泄されている可能性が高いと考えた。しかし、EVAL 膜は再生セルロース

膜よりクリアランスが低いが除去量が多いと報告されている¹⁰⁴⁾。さらに微小循環が PMMA 膜等と比較し改善しているとも報告されており^{105,106)}、細胞内から細胞外への物質の移動を促進する機序が考えられている¹⁰⁴⁾。本症例においても、自尿の影響だけではなく、EVAL 膜を使用することにより微小循環が改善し、尿毒症物質が細胞内から細胞外へ移動して除去された可能性もある。

これらの結果から、ダイアライザーの性能にも影響されるが、通常透析はクレアチニンのような水溶性低分子や $\beta 2$ -MG 程度の分子量である中分子型尿毒症物質は十分に除去できるが、タンパク結合率が高いインドキシル硫酸のような尿毒症物質は十分に除去できていないと考えた。

基礎研究において、筋細胞においてインドキシル硫酸刺激で Nrf2 が活性化した場合には IL-6 の活性化は見られないとの報告があるが⁴¹⁾、一方で、サルコペニアで脂肪組織や炎症性細胞で生成された IL-6 や TNF- α 等の炎症性サイトカインにより骨格筋の主要なタンパク質を分解するユビキチンリガーゼ (MuRF1、Atrogin1)を増加させ筋分解を促進することが報告されている¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾。したがって、IL-6 などの炎症に関わる mRNA が通常透析群と比較してオーバーナイト長時間透析群の変化率で上昇するようであれば悪影響を及ぼしている可能性があるが、本研究では IL-6 などの炎症性サイトカインの mRNA 発現の変化率には有意差は見られなかった。

基礎研究において筋細胞ではインドキシル硫酸が代謝へ影響することが報告されているが⁴¹⁾、通常透析群とオーバーナイト長時間透析群において PBMCs における G6PD、PGD、TALDO1 などの代謝に係わる因子の透析前後における mRNA 発現の変化率に違いはみられなかった。この違いは、細胞種が異なることが原因と考えられ、ヒトの筋生検を用いた評価が必要である。しかし、現在 CKD 患者から筋生検を行うことは困難である。

インドキシル硫酸の筋細胞への蓄積は酸化ストレスと代謝変化を誘導し、エネルギー産生の低下とミトコンドリアネットワークの崩壊によりサルコペニアを引き起こすことが報告されている⁴¹⁾。本研究において血漿インドキシル硫酸濃度と酸化ストレスマーカーである 8-イソプロスタンの変化率は正の相関関係がみられた。このことは、生体内でもインドキシル硫酸が酸化ストレスの原因となっていること、インドキシル硫酸を除去することにより酸化ストレスを軽減することを示している。

LM Pedruzzi らは、平均 54.9 ± 15.2 歳、20 例の HD 患者と平均 50.9 ± 8 歳、11 例の健常人での PBMCs における Nrf2 および Nrf2 関連因子の mRNA 発現について測定を行い、Nrf2 値は HD 患者が 0.58 ± 0.35 /GAPDH、健常人が 1.13 ± 0.64 /GAPDH、HMOX-1 は HD 患者が 1.7 ± 0.7 /GAPDH、健常人が 1.5 ± 1.4 /GAPDH、NQO1 HD 患者が 0.47 ± 0.26 /GAPDH、健常人が 1.04 ± 0.25 /GAPDH

と報告している⁵⁰⁾。この報告においても Shapiro-Wilk test を行っており、人種などの違いはあるが平均値の比較に意味はあると考え透析前の平均値の比較を行った。本研究では *Nrf2* は通常透析群は 1.09 ± 0.5 /*GAPDH*、オーバーナイト長時間透析群は 1.23 ± 0.32 /*GAPDH*、*HMOX-1* は通常透析群 0.74 ± 0.44 /*GAPDH*、オーバーナイト長時間透析群 0.68 ± 0.3 /*GAPDH*、*NQO1* は通常透析群 3.3 ± 3.22 /*GAPDH*、オーバーナイト長時間透析群は 6.96 ± 5.26 /*GAPDH* であり、*Nrf2*、*NQO1* は LM Pedruzzi らの報告における健常人の値より高値となっている。このことから、本研究では透析開始時に *Nrf2* および *Nrf2* 関連因子は抑制されているわけではないと判断した。

PBMCs における mRNA で、通常透析群と比較しオーバーナイト長時間透析群は *Nrf2* の透析前後における変化率が減少していた。また、*Nrf2* 関連因子であり酸化ストレスに関与する *TXNRD1* は通常透析群より低値となる傾向があった。

基礎研究では筋細胞においてインドキシル硫酸により *Nrf2* タンパク質の増加が報告されていること⁴¹⁾、本研究ではインドキシル硫酸と酸化ストレスマーカーの変化率に正の相関があったことから、血漿インドキシル硫酸の減少により酸化ストレスが軽減し *Nrf2* の変化率がオーバーナイト長時間透析群で有意に低下した可能性がある。

細胞保護や酸化ストレスへの防御に関わる *HMOX-1* は、通常透析群と比較

してオーバーナイト長時間透析群で変化率が増加していた。HMOX-1 は Nrf2 関連因子であるが¹¹⁰⁾、転写因子である BTB and CNC homology 1 (Bach1) によって抑制されることも報告されている¹¹¹⁾。Bach1 は、補欠分子族の一つであるヘムにより抑制される^{112,113)}。このように HMOX-1 は Nrf2 以外の制御も受けており、本研究では Nrf2 およびその関連因子は減少もしくは減少傾向にあることから、HMOX-1 の増加は Nrf2 関連因子を介さない防御反応の増加を示唆している可能性がある。HMOX-1 は組織や臓器を炎症によるストレスから保護すること^{114,115)}、侵襲に対し防御効果があること、HD 後に HMOX-1 が増加することが報告されていることから¹¹⁶⁾、ストレスに対する防御として機能している可能性がある。オーバーナイト長時間透析でのストレスの原因であるが、ダイアライザーは膜表面に付着層の形成、膜内での膜細孔の目詰まりなどにより劣化することが知られており¹⁰²⁾、オーバーナイト長時間透析においては劣化したダイアライザーなどへの接触が炎症反応などのストレスを惹起することが考えられる。以上より、HMOX-1 はオーバーナイト長時間透析の欠点として考えられる、ダイアライザー等に長時間接触することにより引き起こされる炎症などのストレスに対する防御として機能している可能性がある。

ECW/TBW は超音波検査による下大静脈径と相関しているとの報告があり浮腫の指標とされている¹¹⁷⁾。本研究では ECW/TBW は正常範囲内であったこ

とから、すべての患者において透析後に体液貯留は是正されていると判断した。

本研究のオーバーナイト長時間透析群では、体液貯留は是正されており骨格筋量の減少が抑制されていたことから、サルコペニアを抑制する可能性がある。

しかしながら、本研究の観察期間は2か月と短期間であったため、長期間の骨格筋量の変化を観察する必要がある。

本研究の新規所見は、オーバーナイト長時間透析におけるタンパク結合性型尿毒症物質の除去効果、インドキシル硫酸と酸化ストレスとの関連、筋肉量減少の抑制について示唆したことである。

7. 研究限界

本研究はオーバーナイト長時間透析患者が 8 例と少数であり、年齢で有意差がある群同士の比較であることから、年齢による影響を受けている可能性がある。今後年齢を調整した多施設共同研究で患者数を増やし、長時間透析でインドキシル硫酸、酸化ストレス、筋肉量など各データの変動と各データの相関関係を検証していく必要がある。また、症例数が少なく統計学的に弱く、エリスロポエチンの値などは有意差がなかった。

8. 結論

本研究では 2 ヶ月で現れる効果を、タンパク結合型尿毒症物質の動態から検討した。オーバーナイト長時間透析でインドキシル硫酸を除去することにより酸化ストレスが低下し、筋肉の減量が抑制されることを明らかにした。

9. 参考文献

1. 中村栄一: 腎および代謝疾患のアミノ酸代謝に関する臨床研究. 日本腎臓学会誌 1971; 13: 679-706
2. G Kanzaki, VG Puelles, LA Cullen-McEwen, WE Hoy, Y Okabayashi, N Tsuboi, A Shimizu, KM Denton, MD Hughson, T Yokoo, JF Bertram: New insights on glomerular hyperfiltration: a Japanese autopsy study. JCI Insight 2017; 2:
3. 今井圓裕, 井関邦敏, 新田孝作, 深川雅史, 安田宜成, 山縣邦弘, 横山仁: CKD 診療ガイド 2012. 日本腎臓学会誌 2012; 54: 1031-1191
4. 政金生人, 谷口正智, 中井滋, 土田健司, 和田篤志, 尾形聡, 長谷川毅: わが国の慢性透析療法の現況. 日本透析医学会雑誌 2018; 51: 1-51
5. 政金生人, 谷口正智, 中井滋, 土田健司, 後藤俊介, 和田篤志, 尾形聡, 長谷川毅, 濱野高行, 花房規男, 水口潤, 中元秀友: わが国の慢性透析療法の現況. 日本透析医学会雑誌 2017; 50: 1-60
6. BF Culleton, M Walsh, SW Klarenbach, G Mortis, N Scott-Douglas, RR Quinn, M Tonelli, S Donnelly, MG Friedrich, A Kumar, H Mahallati, BR Hemmelgarn, BJ Manns: Effect of frequent nocturnal hemodialysis vs conventional hemodialysis on left ventricular mass and quality of life: a randomized controlled trial. JAMA 2007; 298: 1291-1299
7. BH Scribner, DG Oreopoulos: The hemodialysis product (HDP): A better index of dialysis adequacy than Kt/V. Dialysis & Transplantation, 2002; 31: 13-15
8. CM Kjellstrand, U Buoncristiani, G Ting, J Traeger, GB Piccoli, R Sibai-Galland, BA Young, CR Blagg: Short daily haemodialysis: survival in 415 patients treated for 1006 patient-years. Nephrol Dial Transplant 2008; 23: 3283-3289
9. 水口潤, 友雅司, 政金生人, 渡邊有三, 川西秀樹, 秋葉隆, 伊丹儀友, 小松康宏, 鈴木一之, 武本佳昭, 田部井薫, 土田健司, 中井滋, 服部元史, 峰島三千男, 山下明泰, 斎藤明, 内藤秀宗: 維持血液透析ガイドライン: 血液透析処方. 日本透析医学会雑誌 2013; 46: 587-632
10. E Ok, S Duman, G Asci, M Tumuklu, O Onen Serto, M Kayikcioglu, H Toz, SM Adam, M Yilmaz, HZ Tonbul, M Ozkahya, Long Dialysis Study Group: Comparison of 4- and 8-h dialysis sessions in thrice-weekly in-centre haemodialysis: a prospective, case-controlled study. Nephrol Dial Transplant 2011; 26: 1287-1296
11. A Bugeja, N Dacouris, A Thomas, R Marticorena, P McFarlane, S Donnelly, M Goldstein: In-center nocturnal hemodialysis: another option in the management of chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol 2009; 4: 778-783
12. B Charra, C Chazot, G Jean, G Laurent: Long, slow dialysis. Miner Electrolyte

Metab 1999; 25: 391-396

13. B Charra, E Calemard, M Ruffet, C Chazot, JC Terrat, T Vanel, G Laurent: Survival as an index of adequacy of dialysis. *Kidney Int* 1992; 41: 1286-1291
14. 水口潤, 友雅司, 政金生人, 渡邊有三, 川西秀樹, 秋葉隆, 伊丹儀友, 小松康宏, 鈴木一之, 武本佳昭, 田部井薫, 土田健司, 中井滋, 服部元史, 峰島三千男, 山下明泰, 斎藤明, 内藤秀宗, 平方秀樹: 維持血液透析ガイドライン 血液透析処方. *日本透析医学会雑誌* 2013; 46: 587-632
15. GR Karur, R Wald, MB Goldstein, R Wald, L Jimenez-Juan, M Kiaii, J Leipsic, A Kirpalani, O Bello, A Barthur, MY Ng, DP Deva, AT Yan: Association between conversion to in-center nocturnal hemodialysis and right ventricular remodeling. *Nephrol Dial Transplant* 2017:
16. QL Zhang, D Rothenbacher: Prevalence of chronic kidney disease in population-based studies: systematic review. *BMC Public Health* 2008; 8: 117
17. LS Dalrymple, R Katz, B Kestenbaum, MG Shlipak, MJ Sarnak, C Stehman-Breen, S Seliger, D Siscovick, AB Newman, L Fried: Chronic kidney disease and the risk of end-stage renal disease versus death. *J Gen Intern Med* 2011; 26: 379-385
18. CP Kovesdy, BK Trivedi, JE Anderson: Association of kidney function with mortality in patients with chronic kidney disease not yet on dialysis: a historical prospective cohort study. *Adv Chronic Kidney Dis* 2006; 13: 183-188
19. M Nakayama, H Metoki, H Terawaki, T Ohkubo, M Kikuya, T Sato, K Nakayama, K Asayama, R Inoue, J Hashimoto, K Totsune, H Hoshi, S Ito, Y Imai: Kidney dysfunction as a risk factor for first symptomatic stroke events in a general Japanese population--the Ohasama study. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1910-1915
20. KK Baumgartner RN, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, Lindeman RD.: Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 755-763
21. H Arai, M Akishita, LK Chen: Growing research on sarcopenia in Asia. *Geriatr Gerontol Int* 2014; 14 Suppl 1: 1-7
22. 栗原功, 松尾幾: 外来血液透析患者におけるサルコペニアの検討. *宮城県腎不全研究会会誌* 2015; 43: 65-69
23. 葛谷雅文: 超高齢社会におけるサルコペニアとフレイル. *日本内科学会雑誌* 2015; 104: 2602-2607
24. 長谷川壮, 大場みゆき, 山崎貞一郎, 成田裕一郎, 宮形滋, 近江薫: 当院外来透析患者におけるフレイル・サルコペニア有症率. *秋田腎不全研究会誌* 2017; 20: 64-68

25. P Stenvinkel, O Heimbürger, F Paultre, U Diczfalussy, T Wang, L Berglund, T Jøgestrand: Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1899-1911
26. AJ Cruz-Jentoft, JP Baeyens, JM Bauer, Y Boirie, T Cederholm, F Landi, FC Martin, JP Michel, Y Rolland, SM Schneider, E Topinkova, M Vandewoude, M Zamboni, P European Working Group on Sarcopenia in Older: Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 2010; 39: 412-423
27. VA Souza, D Oliveira, HN Mansur, NM Fernandes, MG Bastos: Sarcopenia in chronic kidney disease. *J Bras Nefrol* 2015; 37: 98-105
28. E Sato, M Kohno, M Yamamoto, T Fujisawa, K Fujiwara, N Tanaka: Metabolomic analysis of human plasma from haemodialysis patients. *Eur J Clin Invest* 2011; 41: 241-255
29. RJ Ellis, DM Small, DA Vesey, DW Johnson, R Francis, L Vitetta, GC Gobe, C Morais: Indoxyl sulphate and kidney disease: Causes, consequences and interventions. *Nephrology (Carlton)* 2016; 21: 170-177
30. R Vanholder, R De Smet, G Glorieux, A Argiles, U Baurmeister, P Brunet, W Clark, G Cohen, PP De Deyn, R Deppisch, B Descamps-Latscha, T Henle, A Jorres, HD Lemke, ZA Massy, J Passlick-Deetjen, M Rodriguez, B Stegmayr, P Stenvinkel, C Tetta, C Wanner, W Zidek, G European Uremic Toxin Work: Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* 2003; 63: 1934-1943
31. FC Barreto, DV Barreto, S Liabeuf, TB Drueke, ZA Massy: Effects of uremic toxins on vascular and bone remodeling. *Semin Dial* 2009; 22: 433-437
32. JJ Kazama, Y Iwasaki, M Fukagawa: Uremic osteoporosis. *Kidney Int Suppl* (2011) 2013; 3: 446-450
33. S Liabeuf, TB Drueke, ZA Massy: Protein-bound uremic toxins: new insight from clinical studies. *Toxins (Basel)* 2011; 3: 911-919
34. 高村徳人, 徳永仁, 緒方賢次, 古屋弓子, 本屋敏郎, 松岡俊和, 平井正巳, 西尾豊隆, 川井恵一, 有森和彦: 尿毒症物質の血清蛋白結合の特性に関する研究. *九州保健福祉大学研究紀要* 2006; 7: 211-215
35. N Takamura, T Maruyama, M Otagiri: Effects of uremic toxins and fatty acids on serum protein binding of furosemide: possible mechanism of the binding defect in uremia. *Clin Chem* 1997; 43: 2274-2280
36. CC Hsu, YC Lu, CA Chiu, TH Yu, WC Hung, CP Wang, LF Lu, FM Chung, YJ Lee, IT Tsai: Levels of indoxyl sulfate are associated with severity of coronary

atherosclerosis. *Clin Invest Med* 2013; 36: E42-49

37. FC Barreto, DV Barreto, S Liabeuf, N Meert, G Glorieux, M Temmar, G Choukroun, R Vanholder, ZA Massy, G European Uremic Toxin Work: Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1551-1558
38. Y Yu, X Guan, L Nie, Y Liu, T He, J Xiong, X Xu, Y Li, K Yang, Y Wang, Y Huang, B Feng, J Zhang, J Zhao: DNA hypermethylation of sFRP5 contributes to indoxyl sulfate-induced renal fibrosis. *J Mol Med (Berl)* 2017; 95: 601-613
39. E Banoglu, RS King: Sulfation of indoxyl by human and rat aryl (phenol) sulfotransferases to form indoxyl sulfate. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2002; 27: 135-140
40. E Banoglu, GG Jha, RS King: Hepatic microsomal metabolism of indole to indoxyl, a precursor of indoxyl sulfate. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2001; 26: 235-240
41. E Sato, T Mori, E Mishima, A Suzuki, S Sugawara, N Kurasawa, D Saigusa, D Miura, T Morikawa-Ichinose, R Saito, I Oba-Yabana, Y Oe, K Kisu, E Naganuma, K Koizumi, T Mokudai, Y Niwano, T Kudo, C Suzuki, N Takahashi, H Sato, T Abe, T Niwa, S Ito: Metabolic alterations by indoxyl sulfate in skeletal muscle induce uremic sarcopenia in chronic kidney disease. *Sci Rep* 2016; 6: 36618
42. Y Enoki, H Watanabe, R Arake, R Sugimoto, T Imafuku, Y Tominaga, Y Ishima, S Kotani, M Nakajima, M Tanaka, K Matsushita, M Fukagawa, M Otagiri, T Maruyama: Indoxyl sulfate potentiates skeletal muscle atrophy by inducing the oxidative stress-mediated expression of myostatin and atrogen-1. *Sci Rep* 2016; 6: 32084
43. S Yamamoto, JJ Kazama, K Omori, K Matsuo, Y Takahashi, K Kawamura, T Matsuto, H Watanabe, T Maruyama, I Narita: Continuous Reduction of Protein-Bound Uraemic Toxins with Improved Oxidative Stress by Using the Oral Charcoal Adsorbent AST-120 in Haemodialysis Patients. *Sci Rep* 2015; 5: 14381
44. BS Tiryaki, T Tasliyurt, BM Yelken, S Sahin, F Kutluturk, HI Koseoglu, B Ozturk, A Yilmaz, S Sahin: Evaluation of oxidative stress using exhaled breath 8-isoprostane levels on chronic kidney disease. *Niger J Clin Pract* 2014; 17: 356-360
45. KC Das, CW White: Redox systems of the cell: possible links and implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 9617-9618
46. JD Hayes, M McMahon, S Chowdhry, AT Dinkova-Kostova: Cancer chemoprevention mechanisms mediated through the Keap1-Nrf2 pathway. *Antioxid Redox Signal* 2010; 13: 1713-1748

47. EH Kobayashi, T Suzuki, R Funayama, T Nagashima, M Hayashi, H Sekine, N Tanaka, T Moriguchi, H Motohashi, K Nakayama, M Yamamoto: Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun* 2016; 7: 11624
48. TH Rushmore, MR Morton, CB Pickett: The antioxidant responsive element. Activation by oxidative stress and identification of the DNA consensus sequence required for functional activity. *J Biol Chem* 1991; 266: 11632-11639
49. LE Otterbein, LL Mantell, AM Choi: Carbon monoxide provides protection against hyperoxic lung injury. *Am J Physiol* 1999; 276: L688-694
50. LM Pedruzzi, LF Cardozo, JB Daleprane, MB Stockler-Pinto, EB Monteiro, M Leite, Jr., ND Vaziri, D Mafra: Systemic inflammation and oxidative stress in hemodialysis patients are associated with down-regulation of Nrf2. *J Nephrol* 2015; 28: 495-501
51. R Vanholder, E Schepers, A Pletinck, EV Nagler, G Glorieux: The uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate: a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25: 1897-1907
52. T Niwa: Update of uremic toxin research by mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 2011; 30: 510-521
53. T Nii-Kono, Y Iwasaki, M Uchida, A Fujieda, A Hosokawa, M Motojima, H Yamato, K Kurokawa, M Fukagawa: Indoxyl sulfate induces skeletal resistance to parathyroid hormone in cultured osteoblastic cells. *Kidney Int* 2007; 71: 738-743
54. C Basile, P Libutti, AL Di Turo, FG Casino, L Vernaglione, S Tundo, P Maselli, EV De Nicolo, E Ceci, A Teutonico, C Lomonte: Removal of uraemic retention solutes in standard bicarbonate haemodialysis and long-hour slow-flow bicarbonate haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 1296-1303
55. 久保哲哉, 上藺友輝, 森本和重, 氏 隆一, 畠山岳士, 廣川隆一: 長時間透析における蛋白結合性尿毒素の除去についての検討. *腎と透析* 2013; 別冊: 113-115
56. 堤理恵、大藤純、福永佳容子、筑後桃子、瀬部真由、井内茉莉奈、堤保夫、西村匡司、阪上浩: 重症患者における体組成評価の有用性とその限界. *日本静脈経腸栄養学会雑誌* 2016; 31: 803-806
57. LJ Janssen: Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L1067-1082
58. O Bouillanne, G Morineau, C Dupont, I Coulombel, JP Vincent, I Nicolis, S Benazeth, L Cynober, C Aussel: Geriatric Nutritional Risk Index: a new index for evaluating at-risk elderly medical patients. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 777-783

59. K Yamada, R Furuya, T Takita, Y Maruyama, Y Yamaguchi, S Ohkawa, H Kumagai: Simplified nutritional screening tools for patients on maintenance hemodialysis. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 106-113
60. E Borsheim, QU Bui, S Tissier, H Kobayashi, AA Ferrando, RR Wolfe: Effect of amino acid supplementation on muscle mass, strength and physical function in elderly. *Clin Nutr* 2008; 27: 189-195
61. RM Lindsay, RS Suri, LM Moist, AX Garg, M Cuerden, S Langford, R Hakim, NJ Ofsthun, SP McDonald, C Hawley, FJ Caskey, C Couchoud, C Awaraji, GE Nesrallah: International Quotidian Dialysis Registry: Annual report 2010. *Hemodial Int* 2011; 15: 15-22
62. RS Suri, AX Garg, GM Chertow, NW Levin, MV Rocco, T Greene, GJ Beck, JJ Gassman, PW Eggers, RA Star, DB Ornt, AS Kliger, Frequent Hemodialysis Network Trial Group: Frequent Hemodialysis Network (FHN) randomized trials: study design. *Kidney Int* 2007; 71: 349-359
63. S Alloatti, A Molino, M Manes, G Bonfant, V Pellu: Long nocturnal dialysis. *Blood Purif* 2002; 20: 525-530
64. 前田憲志, 今忠正, 関野宏, 嶋田俊恒, 飛田美穂, 川口良人, 篠田俊雄, 和田孝雄, 平澤由平, 石川勲, 斎藤明, 白井大祿, 小野利彦, 沼田明, 藤見惺, 福井義博: わが国の慢性透析療法の現況. *日本透析医学会雑誌* 1996; 29: 1-22
65. S Wu, X Gao, S Yang, L Liu, B Ge, Q Yang: Protective effects of cariporide on endothelial dysfunction induced by homocysteine. *Pharmacology* 2013; 92: 303-309
66. F Blachier, AM Davila, R Benamouzig, D Tome: Channelling of arginine in NO and polyamine pathways in colonocytes and consequences. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2011; 16: 1331-1343
67. JY Kim, RC Burghardt, G Wu, GA Johnson, TE Spencer, FW Bazer: Select nutrients in the ovine uterine lumen. VIII. Arginine stimulates proliferation of ovine trophectoderm cells through MTOR-RPS6K-RPS6 signaling cascade and synthesis of nitric oxide and polyamines. *Biol Reprod* 2011; 84: 70-78
68. X Kong, B Tan, Y Yin, H Gao, X Li, LA Jaeger, FW Bazer, G Wu: L-Arginine stimulates the mTOR signaling pathway and protein synthesis in porcine trophectoderm cells. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 1178-1183
69. G Wu, FW Bazer, TA Davis, SW Kim, P Li, J Marc Rhoads, M Carey Satterfield, SB Smith, TE Spencer, Y Yin: Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Amino Acids* 2009; 37: 153-168
70. R Rezaei, W Wang, Z Wu, Z Dai, J Wang, G Wu: Biochemical and physiological bases for utilization of dietary amino acids by young Pigs. *J Anim Sci*

Biotechnol 2013; 4: 7

71. 椿原美治: 蛋白質・アミノ酸代謝異常. 日本臨牀 2004; 62: 124-135
72. 飯田喜俊, 白井大祿, 岩崎悦子, 岡田尚武, 内坂建, 浜野万智子, 三上裕司: 血液透析時のアミノ酸動態と必須アミノ酸輸液療法. 日本腎臓学会誌 1977; 19: 909-919
73. 椿原美治, 飯田喜俊, 湯浅繁一, 河島利広, 中西功, 横川朋子, 友渕基: 慢性血液透析患者における蛋白・アミノ酸代謝異常と必須アミノ酸療法の検討. 日本腎臓学会誌 1982; 19: 1127-1136
74. 柄久保修, 安東俊彦: アミノ酸と生活習慣病—最新アミノグラムで探る「いのち」の科学 女子栄養大学出版社, 2010
75. T Toyohara, Y Akiyama, T Suzuki, Y Takeuchi, E Mishima, M Tanemoto, A Momose, N Toki, H Sato, M Nakayama, A Hozawa, I Tsuji, S Ito, T Soga, T Abe: Metabolomic profiling of uremic solutes in CKD patients. Hypertens Res 2010; 33: 944-952
76. DG Burrin, B Stoll: Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. Am J Clin Nutr 2009; 90: 850s-856s
77. R Rezaei, DA Knabe, CD Tekwe, S Dahanayaka, MD Ficken, SE Fielder, SJ Eide, SL Lovering, G Wu: Dietary supplementation with monosodium glutamate is safe and improves growth performance in postweaning pigs. Amino Acids 2013; 44: 911-923
78. J Bertrand, A Goichon, P Dechelotte, M Coeffier: Regulation of intestinal protein metabolism by amino acids. Amino Acids 2013; 45: 443-450
79. P Xi, Z Jiang, Z Dai, X Li, K Yao, C Zheng, Y Lin, J Wang, G Wu: Regulation of protein turnover by L-glutamine in porcine intestinal epithelial cells. J Nutr Biochem 2012; 23: 1012-1017
80. K Yao, Y Yin, X Li, P Xi, J Wang, J Lei, Y Hou, G Wu: Alpha-ketoglutarate inhibits glutamine degradation and enhances protein synthesis in intestinal porcine epithelial cells. Amino Acids 2012; 42: 2491-2500
81. NW Kleckner, R Dingledine: Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in Xenopus oocytes. Science 1988; 241: 835-837
82. M Friedman, CE Levin: Nutritional and medicinal aspects of D-amino acids. Amino Acids 2012; 42: 1553-1582
83. DJ Ham, BG Gleeson, A Chee, DM Baum, MK Caldw, GS Lynch, R Koopman: L-Citrulline Protects Skeletal Muscle Cells from Cachectic Stimuli through an iNOS-Dependent Mechanism. PLoS One 2015; 10: e0141572
84. J Kim, RC Burghardt, G Wu, GA Johnson, TE Spencer, FW Bazer: Select nutrients in the ovine uterine lumen. IX. Differential effects of arginine, leucine,

glutamine, and glucose on interferon tau, ornithine decarboxylase, and nitric oxide synthase in the ovine conceptus. *Biol Reprod* 2011; 84: 1139-1147

85. CS Katsanos, H Kobayashi, M Sheffield-Moore, A Aarsland, RR Wolfe: A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291: E381-387

86. E Volpi, H Kobayashi, M Sheffield-Moore, B Mittendorfer, RR Wolfe: Essential amino acids are primarily responsible for the amino acid stimulation of muscle protein anabolism in healthy elderly adults. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 250-258

87. J Wang, Z Wu, D Li, N Li, SV Dindot, MC Satterfield, FW Bazer, G Wu: Nutrition, epigenetics, and metabolic syndrome. *Antioxid Redox Signal* 2012; 17: 282-301

88. EA Smith, GT Macfarlane: Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism. *J Appl Bacteriol* 1996; 81: 288-302

89. J. G. Salway: *Metabolism at a Glance*, Wiley blackwell, Hoboken, 2017

90. 佐野博之, 北川裕貴, 本庄克代, 実広純子, 松本三起子, 竹下幸世美, 川畑智子, 増田裕紀子, 高見奈加, 杉原由修, 北浦圭介: 高齢透析患者に透析量の減量が栄養状態の改善に功を奏した 1 例—アミノ酸代謝による考察—. *日本透析医学会雑誌* 2017; 50: 519-526

91. Y Itoh, A Ezawa, K Kikuchi, Y Tsuruta, T Niwa: Protein-bound uremic toxins in hemodialysis patients measured by liquid chromatography/tandem mass spectrometry and their effects on endothelial ROS production. *Anal Bioanal Chem* 2012; 403: 1841-1850

92. MA Carbajo, JM Jimenez, MJ Castro, J Ortiz-Solorzano, A Arango: Outcomes in weight loss, fasting blood glucose and glycosylated hemoglobin in a sample of 415 obese patients, included in the database of the European accreditation council for excellence centers for bariatric surgery with laparoscopic one anastomosis gastric bypass. *Nutr Hosp* 2014; 30: 1032-1038

93. C Ronco, PM Ghezzi, A Brendolan, C Crepaldi, G La Greca: The haemodialysis system: basic mechanisms of water and solute transport in extracorporeal renal replacement therapies. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 Suppl 6: 3-9

94. RA Ward: Blood flow rate: an important determinant of urea clearance and delivered Kt/V. *Adv Ren Replace Ther* 1999; 6: 75-79

95. 川西秀樹, 峰島三千男, 友雅司, 水口潤: 透析浄化器(中空糸型)の機能分

類 2013. 日本透析医学会雑誌 2013; 46: 501-506

96. M Bonomini, B Pavone, V Sirolli, F Del Buono, M Di Cesare, P Del Boccio, L Amoroso, C Di Ilio, P Sacchetta, G Federici, A Urbani: Proteomics characterization of protein adsorption onto hemodialysis membranes. *J Proteome Res* 2006; 5: 2666-2674
97. 石田正夫: エチレンビニルアルコール共重合体透析器の血液適合性. *細胞* 2005; 37: 68-72
98. S Itoh, C Susuki, T Tsuji: Platelet activation through interaction with hemodialysis membranes induces neutrophils to produce reactive oxygen species. *J Biomed Mater Res A* 2006; 77: 294-303
99. V Sirolli, E Ballone, L Amoroso, L Di Liberato, R Di Mascio, P Capelli, A Albertazzi, M Bonomini: Leukocyte adhesion molecules and leukocyte-platelet interactions during hemodialysis: effects of different synthetic membranes. *Int J Artif Organs* 1999; 22: 536-542
100. Y Sakai, H Tsukamoto, Y Fujii, H Tanzawa: Formation of Poly(Methyl Methacrylate) Membranes Utilizing Stereocomplex Phenomenon. *Ultrafiltration Membranes and Applications* 1980: 99-107
101. 菅谷博之, 上野良之, 山田智子, 板垣一郎: ハイパフォーマン・メンブレンを再検証する ハイパフォーマン・メンブレンの構造と機能. *腎と透析* 2006; 61: 19-23
102. 篠田俊雄, 峰島三千男, 本間崇: 臨床工学技士のための透析医療, 秀潤社, 東京, 2017
103. 菊地由華, 菅野草織, 清水理史, 吉川誠, 尾形康幸, 家入伯夫, 堀田修: 長時間透析における各膜の溶質除去動態の検討. *宮城県腎不全研究会会誌* 2015; 43: 126-129
104. 及川一彦, 清水正明, 三谷盛: EVAL 膜(KF-C)の溶質及び体液の細胞内外移動に対する影響. *腎と透析* 1997; 別冊: 83-85
105. 村上成重, 佐藤弘子, 安藤昭子, 後藤広美, 高木裕架, 鶴川豊世武, 岩崎泰憲: 各種透析膜における末梢循環動態の検討. *腎と透析* 2003; 55: 187-191
106. 佐藤元美, 松本芳博, 依馬弘忠, 森田弘之, 天野泉: 血液透析患者における微小循環に対する透析膜の影響. *腎と透析* 2002; 53: 122-124
107. WW Cheung, KH Paik, RH Mak: Inflammation and cachexia in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 711-724
108. DS Raj, P Moseley, EA Dominic, A Onime, AH Tzamaloukas, A Boyd, VO Shah, R Glew, R Wolfe, A Ferrando: Interleukin-6 modulates hepatic and muscle protein synthesis during hemodialysis. *Kidney Int* 2008; 73: 1054-1061
109. J Du, X Wang, C Miereles, JL Bailey, R Debigare, B Zheng, SR Price, WE

Mitch: Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. *J Clin Invest* 2004; 113: 115-123

110. J Alam, D Stewart, C Touchard, S Boinapally, AM Choi, JL Cook: Nrf2, a Cap'n'Collar transcription factor, regulates induction of the heme oxygenase-1 gene. *J Biol Chem* 1999; 274: 26071-26078

111. J Sun, M Brand, Y Zenke, S Tashiro, M Groudine, K Igarashi: Heme regulates the dynamic exchange of Bach1 and NF-E2-related factors in the Maf transcription factor network. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 1461-1466

112. K Ogawa, J Sun, S Taketani, O Nakajima, C Nishitani, S Sassa, N Hayashi, M Yamamoto, S Shibahara, H Fujita, K Igarashi: Heme mediates derepression of Maf recognition element through direct binding to transcription repressor Bach1. *EMBO J* 2001; 20: 2835-2843

113. J Sun, H Hoshino, K Takaku, O Nakajima, A Muto, H Suzuki, S Tashiro, S Takahashi, S Shibahara, J Alam, MM Taketo, M Yamamoto, K Igarashi: Hemoprotein Bach1 regulates enhancer availability of heme oxygenase-1 gene. *EMBO J* 2002; 21: 5216-5224

114. S Inoue, M Suzuki, Y Nagashima, S Suzuki, T Hashiba, T Tsuburai, K Ikehara, T Matsuse, Y Ishigatsubo: Transfer of heme oxygenase 1 cDNA by a replication-deficient adenovirus enhances interleukin 10 production from alveolar macrophages that attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *Hum Gene Ther* 2001; 12: 967-979

115. R Wang, CY Zhang, LP Bai, HD Pan, LM Shu, AN Kong, EL Leung, L Liu, T Li: Flavonoids derived from liquorice suppress murine macrophage activation by up-regulating heme oxygenase-1 independent of Nrf2 activation. *Int Immunopharmacol* 2015; 28: 917-924

116. F Wu, L Yu, ZM Zhang, HB Shi: [Changes of heme oxygenase-1 and inflammatory factors in patients with end-stage renal failure following hemodialysis]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2007; 27: 368-370

117. 佐々木信博, 上野幸司, 白石武, 久野宗寛, 中澤英子, 石井恵理子, 安藤康宏, 草野英二: 高精度体成分分析装置(InBody S20)を用いた血液透析患者の体液量評価 生体電気インピーダンス(BIA)法はDWの指標になり得るか? *日本透析医学会雑誌* 2007; 40: 581-588

【基礎特性の比較】

	インピーダンス測定1回目			インピーダンス測定2回目(2ヶ月後)		
	通常透析	長時間透析	p値	通常透析	長時間透析	p値
年齢(年)	68.1±2.7	44.5±3.0	<.0001	68.1±2.7	44.5±3.0	<.0001
患者数(男/女)	10/0	8/0		10/0	8/0	
透析期間(月)	45.1±15.6	94.9±44.0		47.0±29.2	97.0±44.1	
長時間透析期間(月)		15.4±3.1			18.0±3.1	
透析時間(時間)	4:27±0.06	8:00±0.06		4:27±0.06	8:00±0.06	
BMI(kg/height ²)	21.4±0.6	24.3±1.7	0.14	21.5±1.0	24.0±1.11	0.12
DW(ドライウエイト)(kg)	56.8±1.8	71.6±5.5	0.03	57.2±3.5	71.8±3.9	0.03
BUN (mg/dL)	60.6±4.9	58.9±3.6	0.89	59.3±4.9	62.6±2.2	0.41
Cr (mg/dL)	10.3±0.6	11.2±0.5	0.24	10.2±0.7	11.4±0.5	0.2
TP (g/dL)	6.4±0.1	6.5±0.1	0.61	6.4±0.1	6.4±0.2	0.80
Alb (g/dL)	3.7±0.1	4.0±0.1	0.06	3.8±0.1	3.9±0.1	0.49
Hb (g/dL)	11.2±0.3	11.5±0.2	0.40	11.2±0.3	11.5±0.5	0.57
T.chol (mg/dL)	153.7±15.2	150.8±9.7	0.88	147.9±9.4	152.2±6	0.72
K (mEq/L)	4.5±0.2	4.6±0.1	0.61	4.6±0.2	4.9±0.2	0.16
Ca (mg/dL)	9.1±0.2	9.3±0.2	0.43	9.5±0.2	9.4±0.3	0.76
P (mg/dL)	5.8±0.4	4.7±0.4	0.07	4.8±0.3	5.4±0.5	0.30
CRP (mg/dL)	0.2±0.1	0.2±0.1	1	0.1±0.0	0.2±0.1	0.5
β2-MG (mg/L)	22.7±1.7	22.7±0.9	0.97	23.3±1.7	23.0±1.2	0.87
標準化透析量 Kt/V	1.76±0.12	2.22±0.2	0.054	1.82±0.09	2.21±0.17	0.04
エリスロポエチン (単位/Hb/週)	436.9±93.2	366.6±135.3	0.67	419.8±104.4	390.7±95.8	0.84
血流量 (mL/min)	245.0±8.2	176.3±8.2	<.0001	245.0±8.2	176.3±8.2	<.0001
透析前心胸比(%)	46.9±0.84	44.7±1.23	0.10	46.8±0.9	44.1±1.5	0.12
GNRI	100.1±4.3	113.9±5.7	0.07	107.6±10.3	103.8±3.7	0.73
nPCR	0.9±0.1	1.0±0.1	0.38	0.9±0.1	1.0±0.0	0.14

表1 生体電気インピーダンス法測定1回目と2回目における通常透析とオーバーナイト長時間透析の患者基礎特性の比較

【ダイアライザーの性能表】

ダイアライザー	FX- CorDiax220	FX- CorDiax180	FX- CorDiax140	PES- 17Saeco	Kf-m20	Kf-m15	NF- 1.6H	NF- 2.1H
膜素材	PS	PS	PS	PES	EVAL	EVAL	PMMA	PMMA
UFR(mL/mmHg/h)	106	98	80	49.5	20.6	16.1	35	44
クリアランス 尿素	199	198	196	199	185	174	193	197
(mL/min) クレアチニン	197	193	190	198	154	150	180	189
リン酸	192	189	184	191	146	133	172	183
β2-MG	91	85	70	80	22	17	56.1	60.9

表 2 ダイアライザーの性能表

【プライマー情報】

Gene name	Primer ID	プライマーの塩基配列	
NQO1	HA149076	forward	GGATTGGACCGAGCTGGAA
		reverse	GAAACACCCAGCCGTCAGCTA
G6PD	HA240714	forward	AACATCGCCTGCGTTATCCTC
		reverse	AGTAGGTGGTTCTGCATCACGTC
PGD	HA239313	forward	TTGGCTGGACTCTCAATTATGGTG
		reverse	GGGTTTCGATCAAATGCATCCT
ME1	HA182391	forward	GGCACCTTCAGTTCAGCACA
		reverse	GGCCATTCTGGCAGGTAAGTC
NFE2L2	HA244017	forward	GAGCCCAGTATCAGCAACAGCA
		reverse	TGGGCCCATTTAGAAGTTCAGAG
TALDO1	HA239872	forward	CTGTCATCAACCTGGGAAGGA
		reverse	TTTGCCACATGCCAATCAA
HMOX1	HA182865	forward	GGAACCTTCAGAAGGGCCAGGT
		reverse	TGCAGCTCTTCTGGGAAGTAGACA
GCLC	HA236783	forward	CCACAAATTGGCAGACAATGA
		reverse	CTCTGGTGAGCAGTACCACAAACA
PPAT	HA204757	forward	GGTCAGATAACCCTGTGGCAGT
		reverse	AGGTGGTCCCAGGGCTTTATTC
TNF	HA198263	forward	TGCTTGTTCTCAGCCTCTT
		reverse	CAGAGGGCTGATTAGAGAGAGGT
IL-6	HA209655	forward	GCCAGAGCTGTGCAGATGAG
		reverse	TCAGCAGGCTGGCATTG
TKTL2	HA242102	forward	CACGGTGTCAATGATAAAGTCACAG
		reverse	CAGCAGCTTCTAAGGCTTCATGG
GAPDH	HA067812	forward	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC
		reverse	TGGTGAAGACGCCAGTGGA
TXNRD1		forward	ATATGGCAAGAAGGTGATGGTCC
		reverse	GGGCTTGTCTAACAAGCTG

表 3 PCR 解析で使したプライマー情報

【慢性腎不全のステージ分類】

原疾患	蛋白尿区分			A1	A2	A3
糖尿病	尿アルブミン定量(mg/日)			正常	微量アルブミン尿	顕性アルブミン尿
	尿アルブミン/Cr比 (mg/gCr)			30未満	30-299	300以上
高血圧 腎炎 多発性嚢胞腎 移植腎 不明 その他	尿蛋白定量 (g/日)			正常	軽度蛋白尿	高度蛋白尿
	尿蛋白/Cr比 (g/gCr)			0.15未満	0.15-0.49	0.50以上
GFR区分 (mL/分/1.73m ²)	G1	正常または 高値	≥90			
	G2	正常または 軽度低下	60-89			
	G3a	軽度-中等度 低下	45-59			
	G3b	中等度-高度 低下	30-44			
	G4	高度低下	15-29			
	G5	末期腎不全 (ESKD)	<15			

重症度は原疾患・GFR 区分・蛋白尿区分を合わせたステージにより評価する。CKD の重症度は死亡、末期腎不全、心血管死亡発症のリスクを緑のステージを基準に、黄、オレンジ、赤の順にステージが上昇するほどリスクは上昇する。

(KDIGO CKD guideline 2012 を日本人用に改変)

出典：CKD 診療ガイド 2012p.3

図1 慢性腎不全のステージ³⁾

緑のステージを基準に、黄、オレンジ、赤の順にステージが上昇すると死亡、末期腎不全、心血管死亡発症のリスクは上昇する。

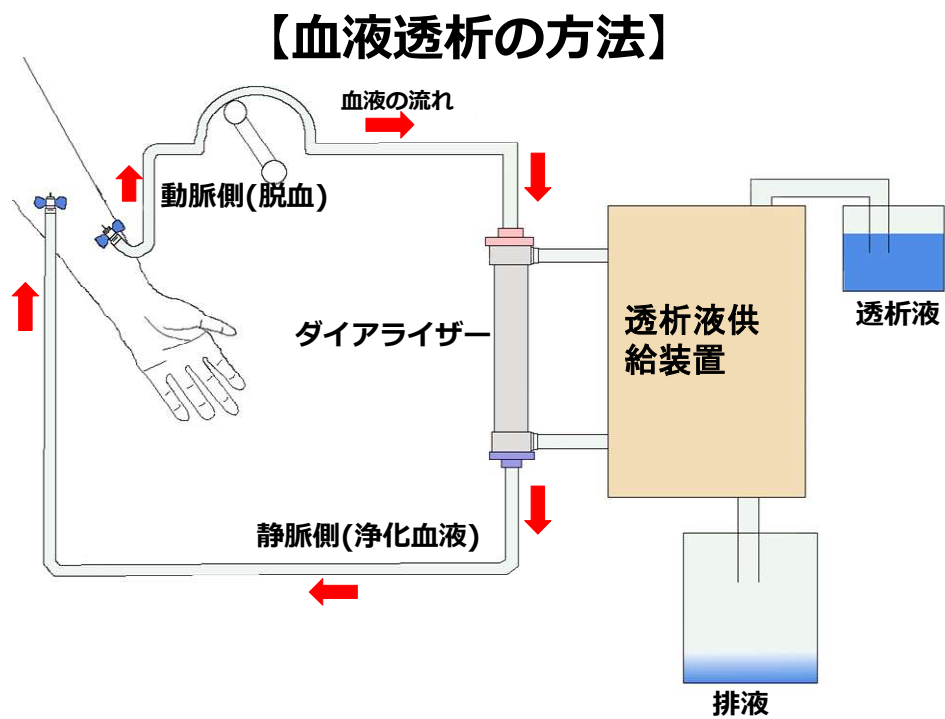
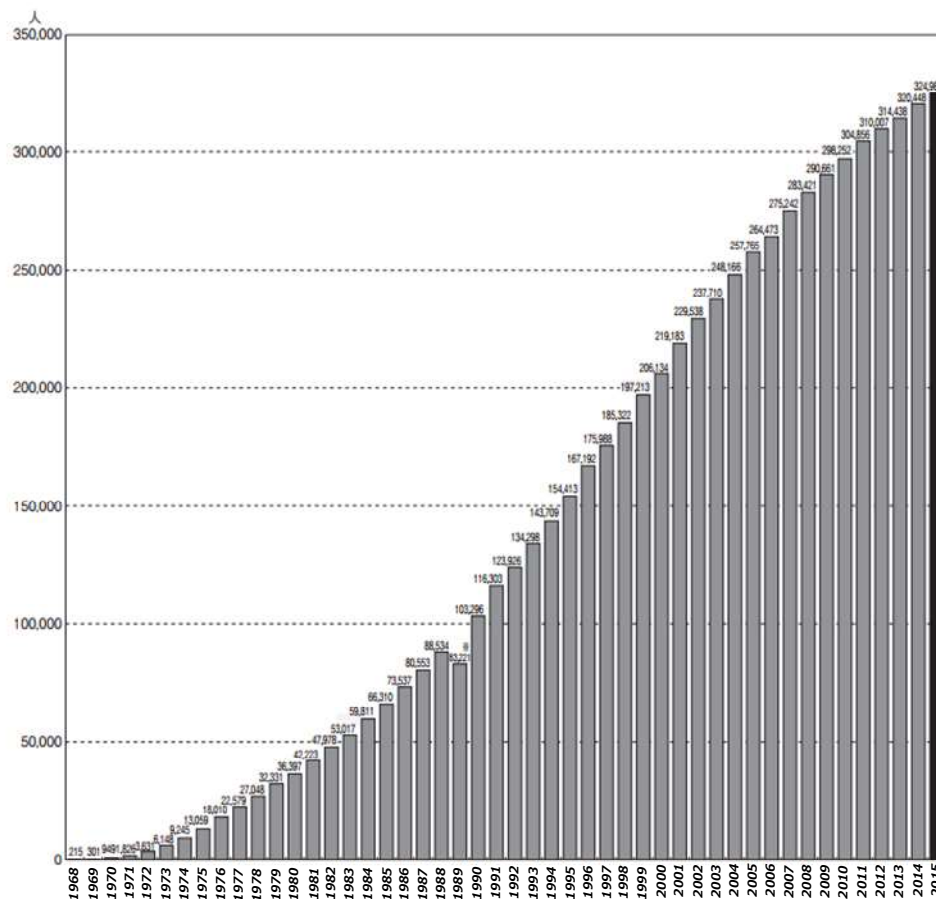


図 2 血液透析の方法

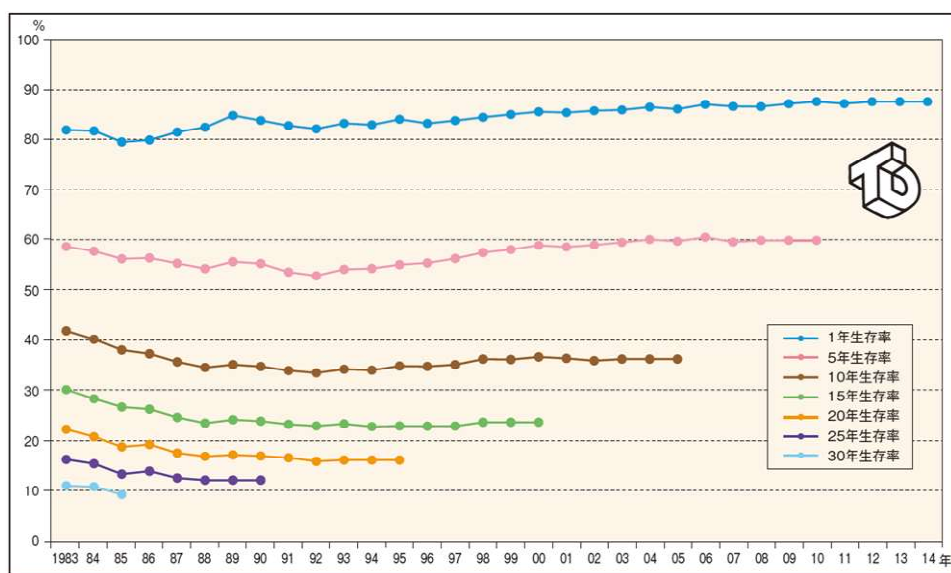
【透析患者数】



出典：わが国の慢性透析療法の現況(2016年12月31日現在)p.7

図3 慢性維持透析患者の数⁴⁾

【透析患者の生存率】



出典：わが国の慢性透析療法の実況(2017)

出典：わが国の慢性透析療法の実況(2015年12月31日現在) p.36

図4 慢性維持透析患者の生存率の推移⁵⁾

【インドキシル硫酸による細胞障害と臓器障害】

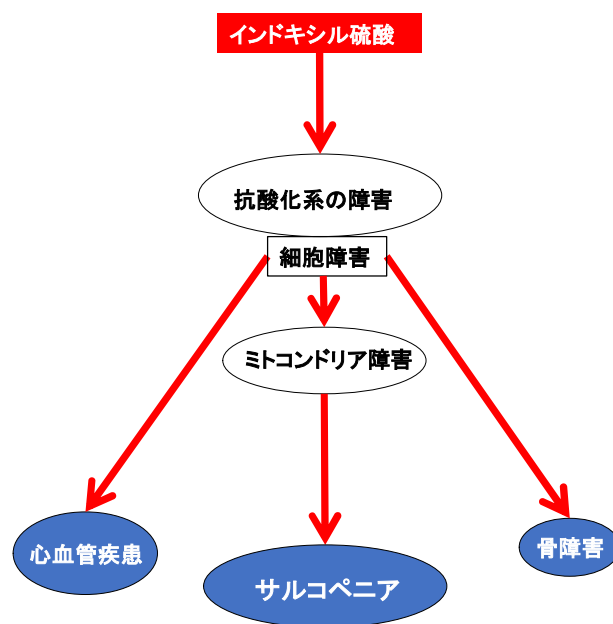


図5 インドキシル硫酸による細胞障害と臓器障害

【生体電気インピーダンス法の測定項目】

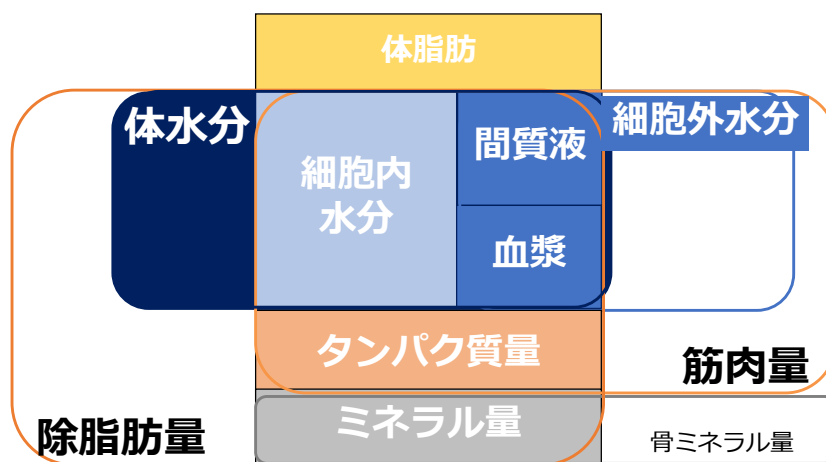


図 6 生体電気インピーダンス法の測定項目

浮腫の指標：細胞外水分 (ECW)/体水分(TBW) (標準範囲：0.36-0.4)

【浮腫の指標】

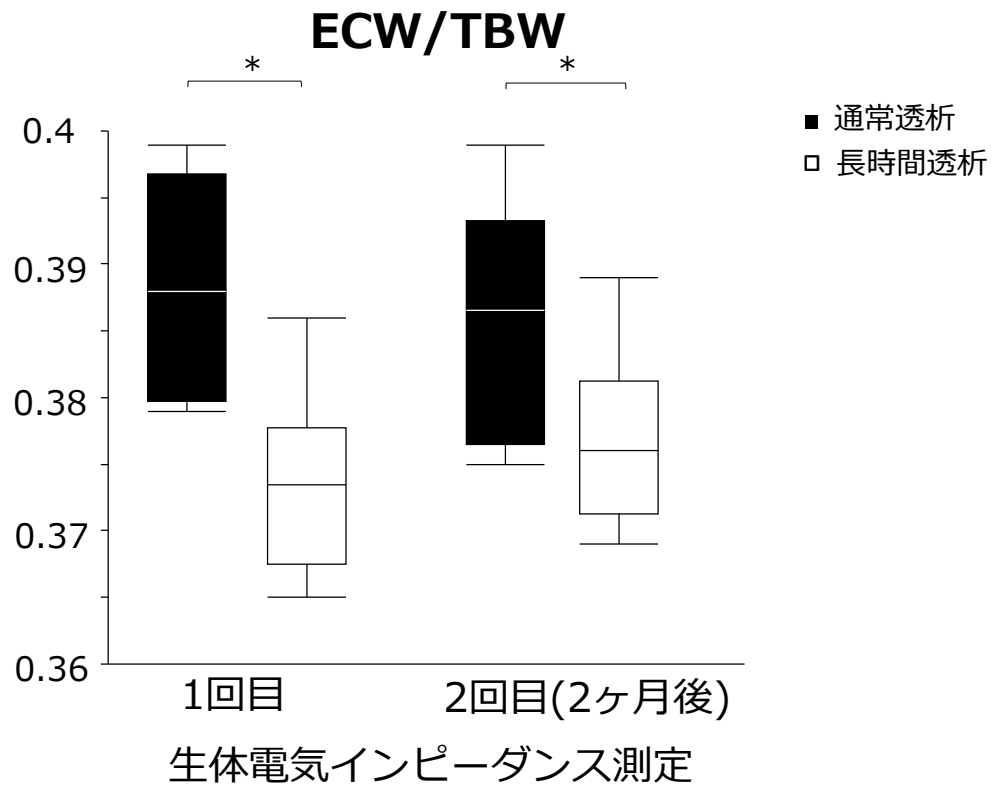


図 7 通常透析とオーバーナイト長時間透析における ECW/TBW の違い

* $P < 0.05$

【生体電気インピーダンス法】

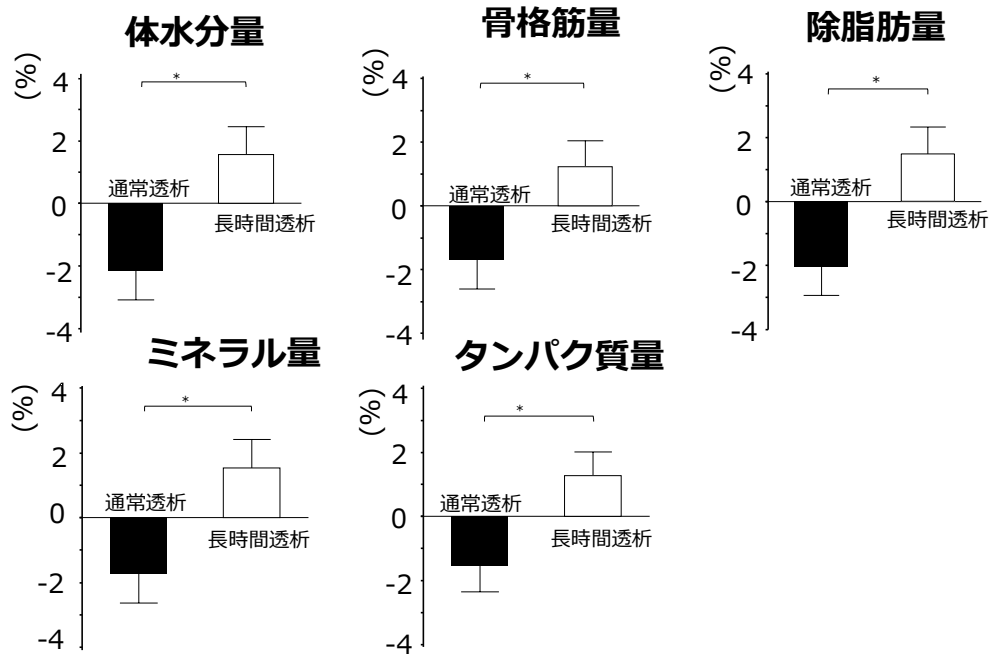


図 8 通常透析とオーバーナイト長時間透析における、生体電気インピーダンス法による変化率

*P < 0.05

【HD前後の血漿アミノ酸の比較】

	基準範囲	HD開始時				HD終了時		
		通常透析	長時間透析	p値		通常透析	長時間透析	p値
タウリン	35.2 - 70.0	159.1±39.8	144.4±51.3	0.82		58.5±9.5	51.4±7.2	0.58
アスパラギン酸	3.2未満	5.6±0.6	4.5±0.6	0.20		4.5±0.4	3.8±0.2	0.25
ハイドロキシプロリン	5.4 - 18.2	32.6±5.6	38.7±4.5	0.42		15.7±2.2	17.7±2.6	0.55
トレオニン	89.2 - 205.0	145.56±12.27	137.2±5.7	0.66		89.0±4.9	95.8±5.3	0.37
セリン	91.5 - 161.8	113.8±10.0	99.2±6.6	0.27		80.4±4.8	75.7±4.5	0.49
アスパラギン	40.8 - 76.5	77.3±6.0	77.2±5.0	0.99		54.7±2.4	53.4±2.5	0.71
グルタミン酸	10.8 - 44.4	77.7±7.8	62.1±6.0	0.15		105.5±12.6	80.5±8.3	0.14
グルタミン	488.2 - 733.1	614.8±18.3	547.5±19.4	0.02		434.5±14.7	471.3±17.2	0.12
プロリン	89.6 - 258.8	303.4±20.1	254.5±20.1	0.11		173.9±13.8	152.5±9.0	0.24
グリシン	153.2 - 362.1	329.7±45.5	315.4±40.5	0.82		211.8±18.1	245.5±27.2	0.30
アラニン	239.9 - 510.2	458.3±28.1	354.6±18.7	0.01		265.8±21.1	197.7±9.6	0.02
シトルリン	20.4 - 44.8	131.1±8.0	101.4±17.4	0.12		48.9±5.4	57.6±4.3	0.25
αアミノ n 酪酸	11.0 - 25.7	11.4±1.2	12.6±1.0	0.44		7.7±0.8	8.9±0.7	0.29
バリン	158.4 - 287.7	223.2±23.2	214.6±16.2	0.78		133.7±9.6	135.8±5.9	0.86
シスチン	36.5 - 56.0	101.9±16.8	71.3±5.9	0.14		24.4±3.5	18.5±1.2	0.17
メチオニン	19.2 - 32.7	27.9±3.8	24.5±1.4	0.45		18.6±1.0	17.8±0.6	0.51
イソロイシン	41.3 - 84.9	80.6±11.2	79.6±7.7	0.94		57.4±5.2	62.7±3.0	0.42
ロイシン	80.9 - 154.3	121.4±16.8	115.4±12.0	0.79		102.7±7.9	109.3±5.0	0.51
チロシン	50.2 - 82.6	44.9±6.18	47.0±5.4	0.82		33.3±3.2	36.3±2.7	0.50
β-アラニン	7.7未満	18.4±3.5	21.7±3.3	0.51		10.0±0.7	9.4±0.4	0.49
フェニルアラニン	45.7 - 76.5	77.9±12.3	76.9±8.1	0.95		56.5±3.7	56.4±2.8	0.98
β-アミノイソ酪酸	3.7未満	36.3±11.9	106.6±32.0	0.06		17.0±4.4	41.8±10.2	0.06
メタノールアミン	6.0 - 10.7	9.4±0.9	10.4±1.5	0.56		7.8±0.5	9.4±1.1	0.20
オルニチン	43.2 - 95.7	128.1±7.5	97.4±7.3	0.01		75.4±4.1	63.6±5.3	0.04
1メチルヒスチジン	12.8未満	74.4±17.0	47.7±7.3	0.20		28.2±5.5	20.3±2.9	0.25
ヒスチジン	67.9 - 97.1	99.0±6.5	93.0±9.5	0.46		60.6±2.1	59.8±1.6	0.78
リジン	118.7 - 257.0	207.6±21.7	178.6±9.5	0.28		126.5±5.5	126.1±2.9	0.95
3メチルヒスチジン	2.9 - 6.8	49.1±2.5	49.8±1.8	0.88		12.7±0.6	13.2±0.7	0.58
トリプトファン	41.4 - 65.5	26.2±3.5	31.7±2.9	0.26		27.1±1.9	32.4±2.7	0.11
アルギニン	46.0 - 121.7	90.1±9.6	60.8±8.2	0.04		43.0±3.9	26.3±3.6	0.01
フィッシャー比	2.3 - 4.3	3.7±0.3	3.4±0.2	0.46		3.3±0.2	3.4±0.2	0.85
総アミノ酸		3221.4±113.3	2841.1±68.9	0.02		2099.3±77.3	2053.6±51.9	0.65
非必須アミノ酸		2211.9±65.9	1889.6±56.1	0.002		1427.3±56.3	1357.6±45.5	0.37
必須アミノ酸		1009.5±99.0	951.5±54.0	0.64		672.0±33.6	696.0±22.9	0.58
分岐鎖アミノ酸		425.2±50.4	409.6±35.4	0.81		293.8±22.2	307.8±13.5	0.62
必須アミノ酸/非必須アミノ酸		0.5±0.05	0.5±0.04	0.46		0.5±0.02	0.5±0.02	0.23
分岐鎖/総アミノ酸		0.1±0.01	0.1±0.01	0.38		0.1±0.01	0.2±0.01	0.24

図 9 通常透析とオーバーナイト長時間透析の血漿アミノ酸を比較（単位：

mmol/mL)

【アミノ酸車軸図】

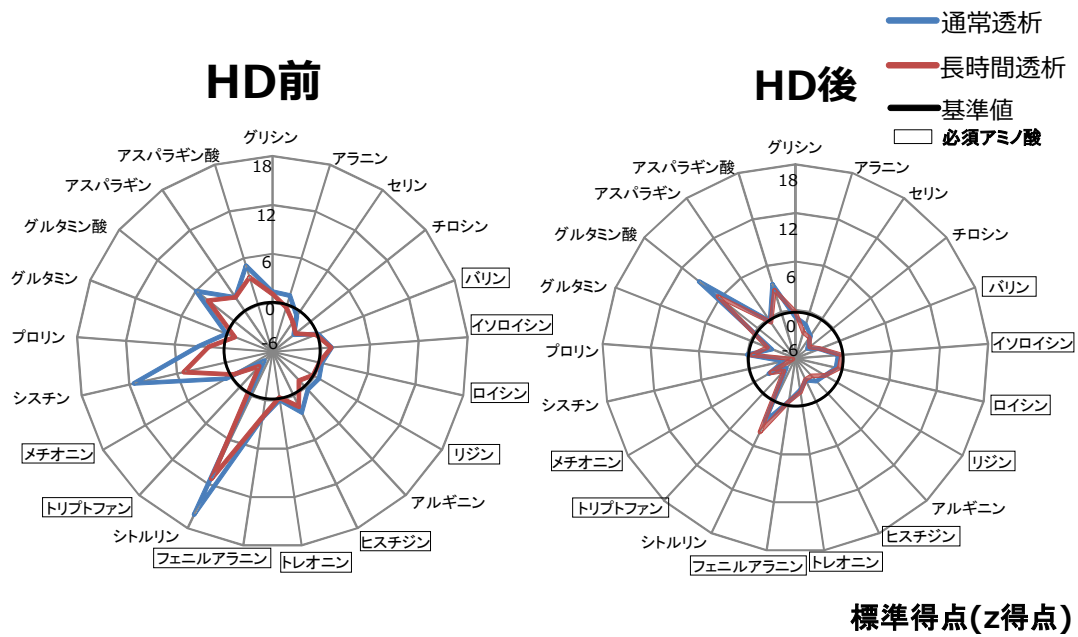


図 10 通常透析とオーバーナイト長時間透析の血漿アミノ酸（車軸図）⁷⁴⁾

タンパク質を合成する 20 種類のアミノ酸とタンパク合成に関わるシスチンについての車軸図（アミノグラム）

【血漿アミノ酸の減少率】

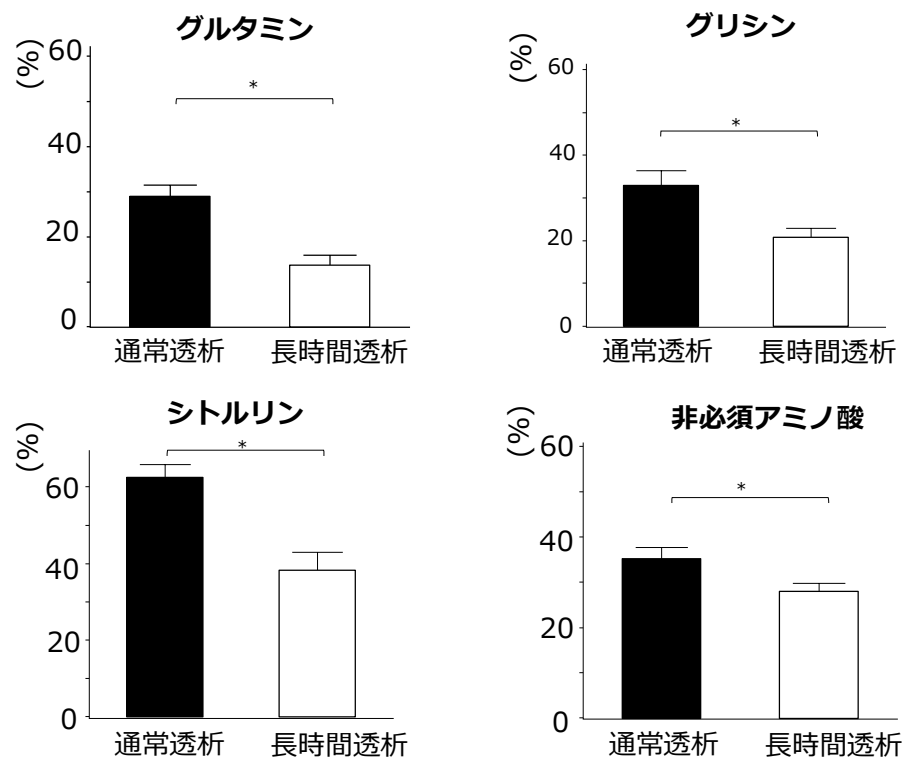


図 11 血漿アミノ酸の透析前後の減少率

*P < 0.05

【HD前後における血漿インドキシル硫酸の比較】

血漿インドキシル硫酸

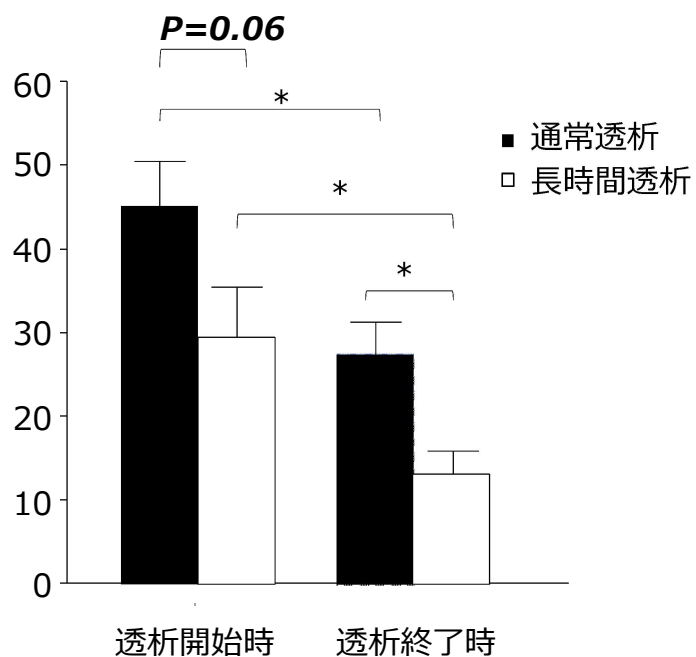


図 12 通常透析とオーバーナイト長時間透析における血漿インドキシル硫酸濃度の比較

* $P < 0.05$

【血漿中タンパク結合型尿毒症物質の経時的変化】

長時間透析

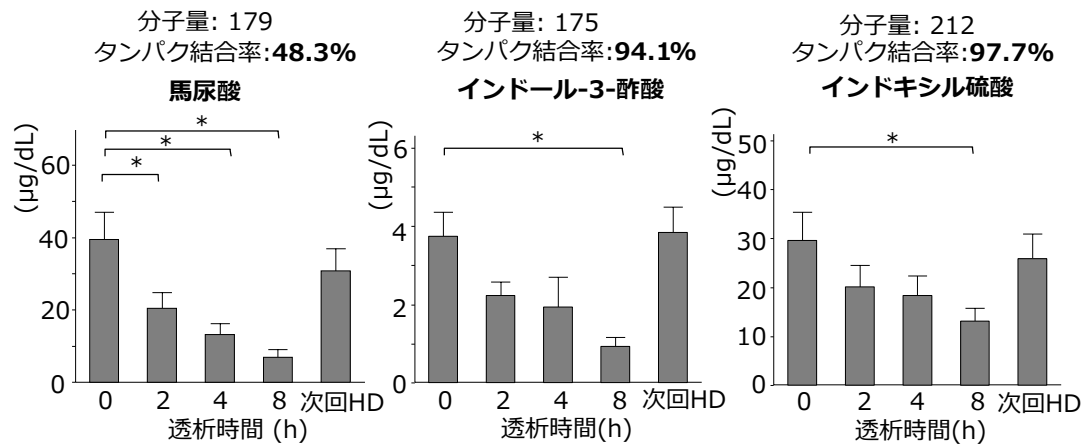


図 13 オーバーナイト長時間透析における血漿中タンパク結合型尿毒症物質の経時的変化（タンパク結合率は Y Itoh らの報告を参照⁹¹⁾）

* $p < 0.05$

【血漿中水溶性低分子型尿毒症物質の経時的変化】

長時間透析

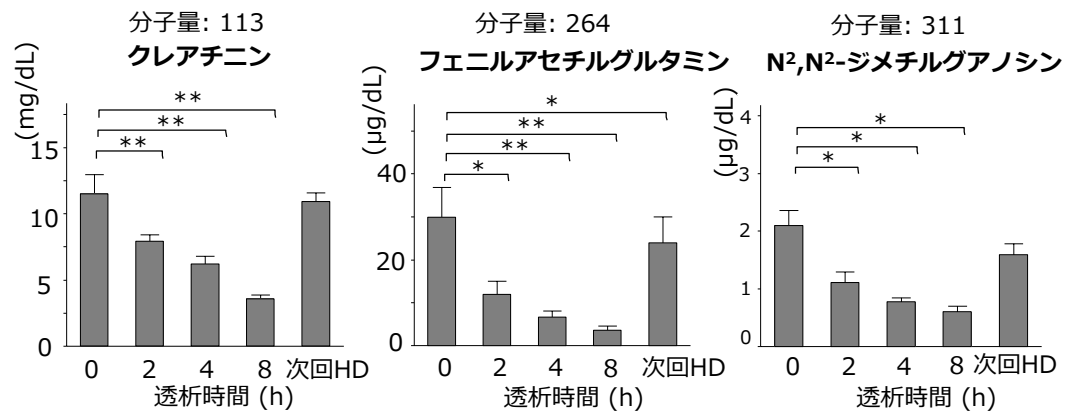


図 14 オーバーナイト長時間透析における血漿中水溶性低分子型尿毒症物質の経時的変化

*p < 0.05

** p < 0.0001

【血漿中中分子型尿毒症物質の経時的変化】

長時間透析

分子量:11800

β2-ミクログロブリン

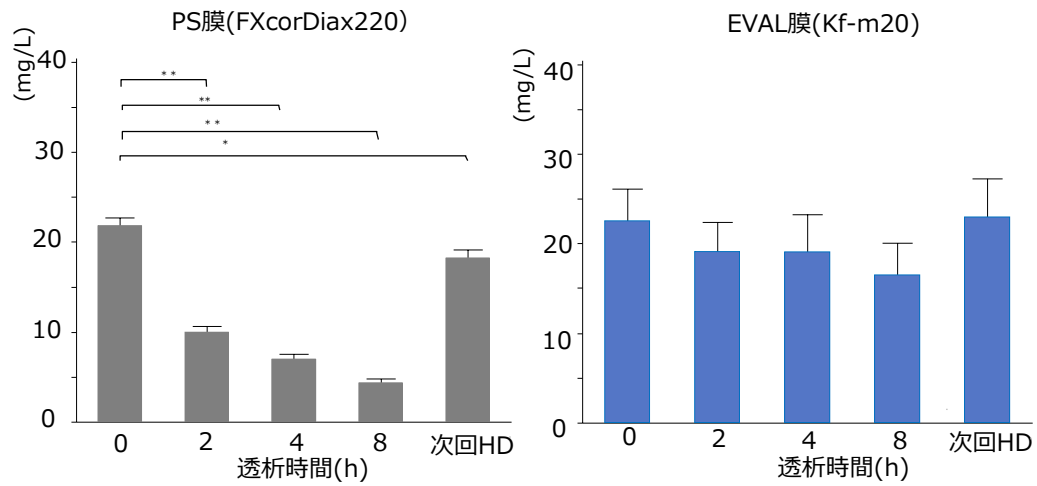


図 15 オーバーナイト長時間透析における血漿中中分子型尿毒症物質（β2-ミクログロブリン）の経時的変化

* $p < 0.05$

** $p < 0.0001$

【タンパク結合型尿毒症物質とダイアライザーとの関連】 長時間透析

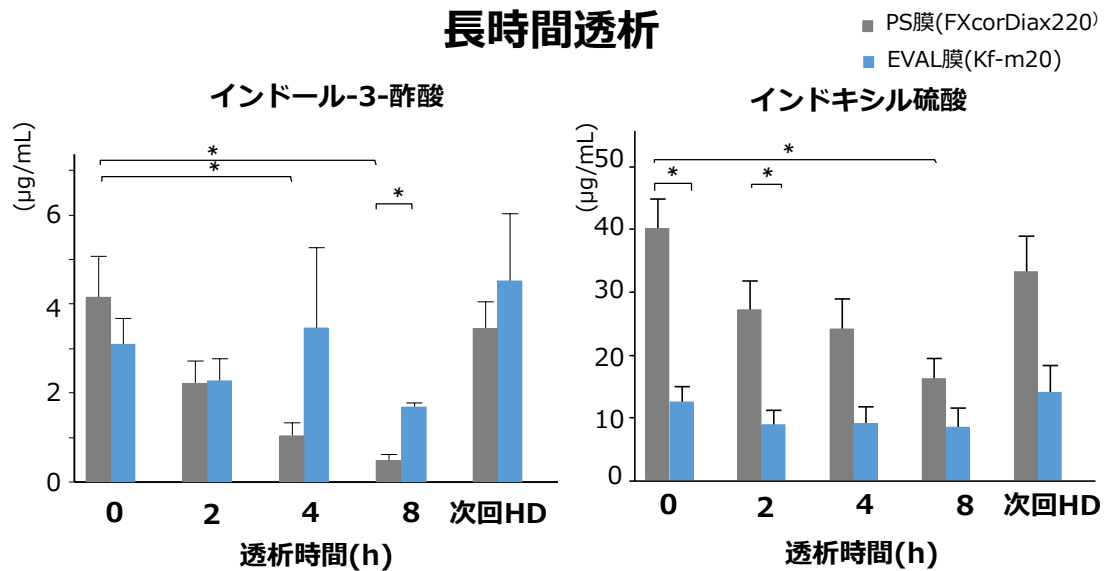


図 16 血漿中タンパク結合型尿毒症物質の除去とダイアライザーの関係

* $P < 0.05$

【血漿8-イソプロスタンと血漿インドキシル硫酸の相関】

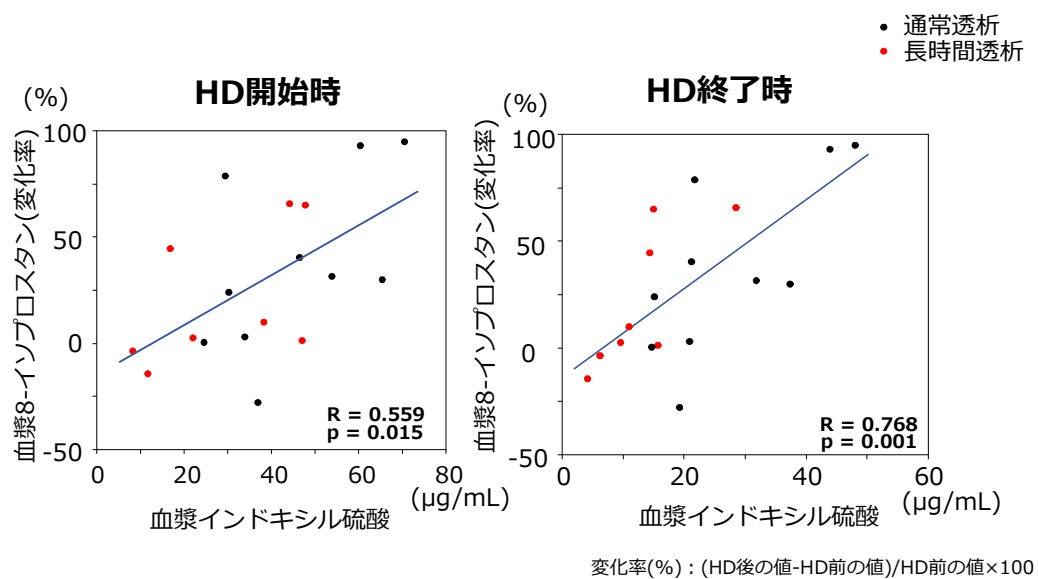
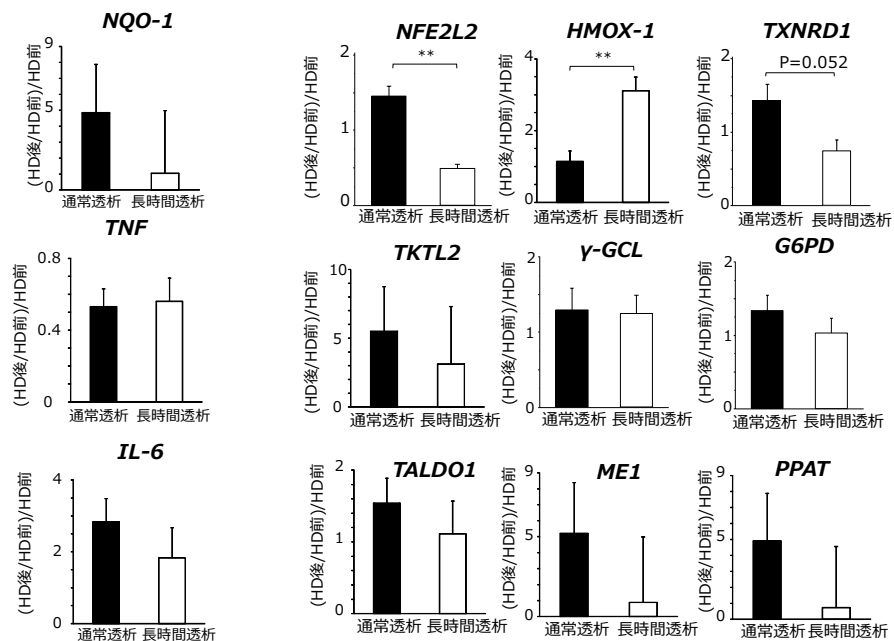


図 17 酸化ストレスマーカーである 8-イソプロスタンの変化率とインドキシル硫酸の相関

【通常透析と長時間透析のmRNA発現の比較】



Torigoe A, et al., Hemodial Int. 2016; 20 Suppl 1:S17-S24(一部改変)

図 18 通常透析とオーバーナイト長時間透析の mRNA 発現の比較

** $p < 0.0001$

【長時間透析の有効性について予想される機序】

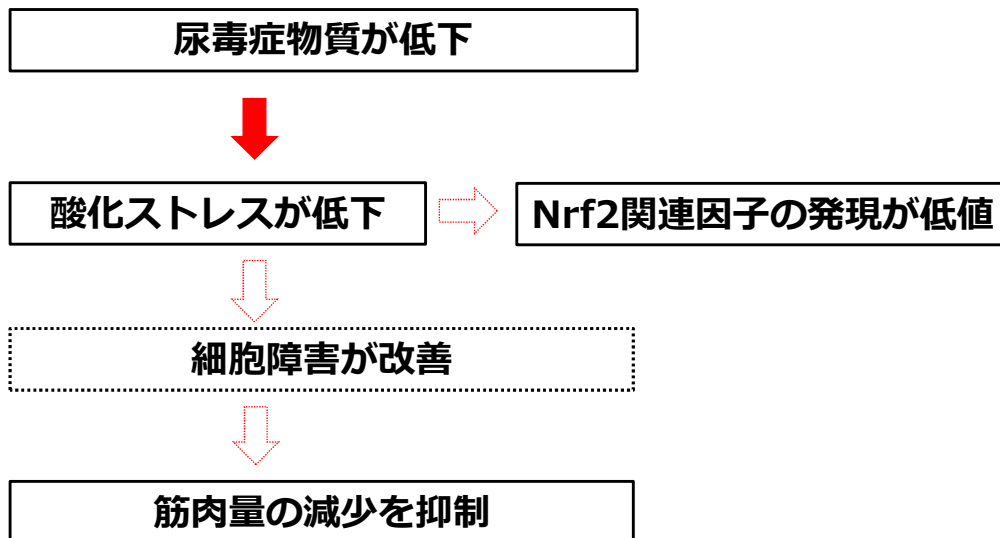


図 19 予後改善について予想される機序

実線は本研究で明らかになった部分。

点線は、本研究では相関が見られなかったが過去の報告から予想される部分。

10. 謝辞

本研究を行う上で、研究の指導、測定・解析を支援していただきました東北大学大学院医学系研究科 腎・高血圧・内分泌学分野 教授 伊藤 貞嘉先生、本研究の実施に当たり、御指導、御鞭撻を賜りました東北医科薬科大学腎臓内分泌内科 教授 森 建文先生、廣瀬 卓男先生、東北大学大学院医学系研究科 腎・高血圧・内分泌学分野 宮崎 真理子先生、山本 多恵先生、東北大学大学院薬学研究科 臨床薬学分野 佐藤 恵美子先生、東北大学大学院医学系研究科 腎・高血圧・内分泌学分野 高橋 知香さんに心より感謝申し上げます。

また、医療法人モクシン 堀田修クリニック 院長 堀田 修先生、副院長 家入 伯夫先生に心より感謝いたします。また、研究に際し技術的御支援および多大なる御助力を頂きました腎・高血圧・内分泌学分野、堀田修クリニックの皆様そして御支援いただきましたすべての方に心より感謝申し上げます。